



**Teresa Raquel Tita Cabana**

Licenciada em Química

## **Valorização de biomassa florestal como matéria-prima para biocombustíveis**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Bioorgânica

### **Orientação:**

Dra. Maria Ascensão Trancoso, (LBA-LNEG)

### **Co-orientação:**

Co-orientador: Prof<sup>a</sup>. Ana Lourenço, (FCT-UNL)

Júri:

Presidente: Prof<sup>a</sup>. Luísa Pinto Ferreira (FCT-UNL)

Arguente: Prof. José Luís Capelo Martinez (FCT-UNL)

Vogais: Prof<sup>a</sup>. Ana Lourenço (FCT-UNL)

Doutora Maria Ascensão Trancoso (LBA-LNEG)



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Monte da Caparica, 2013**



**Teresa Raquel Tita Cabana**

Licenciada em Química

## **Valorização de biomassa florestal como matéria – prima para biocombustíveis**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Bioorgânica

### **Orientação:**

Dra. Maria Ascensão Trancoso, (LBA-LNEG)

### **Co-orientação:**

Co-orientador: Prof<sup>a</sup>. Ana Lourenço, (FCT-UNL)

Júri:

Presidente: Prof<sup>a</sup>. Luísa Pinto Ferreira (FCT-UNL)

Arguente: Prof. José Luís Capelo Martinez (FCT-UNL)

Vogais: Prof<sup>a</sup>. Ana Lourenço (FCT-UNL)

Doutora Maria Ascensão Trancoso (LBA-LNEG)



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Monte da Caparica, 2013**







## **DIREITOS DE CÓPIA**

Teresa Raquel Tita Cabana, *Copyright*

“A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.”



## Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à Doutora Ascensão Trancoso, que esteve sempre disponível para orientar a dissertação, para esclarecer dúvidas, que demonstrou enorme interesse pelo trabalho e por partilhar os seus vastos conhecimentos e experiência.

À Professora Ana Lourenço, minha co-orientadora, quero agradecer o apoio, conselhos e disponibilidade demonstrada.

Um agradecimento às funcionárias que trabalharam diariamente comigo no Laboratório de Biocombustíveis e Ambiente, do LNEG, com as quais tive o privilégio de trabalhar, obrigada pela cumplicidade, partilha e aprendizagem.

À Carla Rodrigues, que sempre me ajudou na parte experimental, se mostrou disponível para me tirar dúvidas, ou simplesmente para me dar uma palavra amiga quando precisei.

Um agradecimento gigantesco aos meus pais, pelo apoio, o encorajamento e a compreensão incondicional que sempre me demonstraram ao longo de todos estes anos.

Ao meu namorado João Barata pela paciência, incentivo, apoio e ajuda que me deu durante estes meses de trabalho. Obrigada por tudo.

A todos aqueles que, não estando aqui mencionados, de alguma forma me apoiaram na realização deste mestrado.





## Resumo

A dissertação tem como objectivo desenvolver e validar metodologias analíticas utilizadas na caracterização química de amostras de biomassa. Os resultados analíticos obtidos serão aplicados no estudo e desenvolvimento do processo de valorização dessas amostras como matéria-prima para biocombustíveis.

Neste trabalho propõe-se um programa de controlo de qualidade para validar as metodologias analíticas utilizadas na caracterização química das amostras de biomassa; demonstrar a qualidade dos resultados obtidos e gerar informação que evidencie as características metrológicas dos resultados.

Deste programa de controlo de qualidade fazem parte o estabelecimento dos parâmetros metrológicos das funções de calibração (faixa linear dinâmica, linearidade e sensibilidade), a avaliação dos limiares analíticos, controlo da estabilidade da função de calibração, avaliação das contaminações, avaliação dos efeitos de matriz, precisão e veracidade. A veracidade do método analítico foi avaliada através da eficiência dos métodos de digestão das amostras, uma vez que não existiram materiais de referência certificados (MRC) disponíveis.

A caracterização química de amostras compreendeu a determinação do teor em humidade, e de cinzas e a análise elementar. Sendo assim, foram desenvolvidos métodos confiáveis e apropriados para a determinação exacta dos metais, que geralmente estão presentes em menores concentrações (Cd, Cr, Mn, Pb Sb) nos biocombustíveis, nas amostras de biomassa, e nas respectivas cinzas, através da técnica analítica de espectrometria de absorção atómica, de acordo com a Norma EN ISO- 15297:2011. Os elementos Cd, Pb e Cr foram analisados por espectrometria de absorção atómica de câmara de grafite (GFAAS) e o Mn por absorção atómica de chama (FAAS).

Antes da análise dos elementos nas amostras por espectrometria de absorção atómica, realizou-se uma etapa de decomposição/digestão. Estudou-se adequabilidade de quatro processos de digestão de amostras.

**Palavras-chave:** Validação de Métodos, Espectrometria de Absorção Atómica; Amostras de Biomassa; Programa de Controlo de Qualidade; Metais; Processos de digestão



## Abstract

The main objective of this work was to develop and validate analytical methodologies used in the chemical characterization of biomass samples. These analytical results will be applied in the study and development of valorization processes of these samples as raw material for biofuels.

Quality assurance program was implemented to evaluate and to control the analytical methodologies used at the chemical characterization of biomass samples, to demonstrate the quality of results obtained and generate information focusing on the characteristics of the metrology results.

This program includes calibration functions metrological features (dynamic linear ranges, linearity and sensibility), evaluation of detection and quantification limits, calibration function stability control, contamination evaluation, effect of matrix evaluation, precision and accuracy. The accuracy of the analytical method was evaluated using the efficiency of the processes of digestion / decomposition of samples, since there were no certified reference materials (MCRs) available.

The chemical characterization of samples included the determination of the moisture content, ash content and elemental analysis. So, methods have been developed reliable and appropriate for the accurate determination of metals, which are usually present in lower concentrations (Cd, Cr, Mn, Pb, Sb) in biofuels, the biomass samples, and respective ashes, through the analytical technique the atomic absorption spectroscopy according to EN-ISO 15297:2011. The elements Cd, Cr, Pb and Sb, were analyzed by atomic absorption spectrometry graphite furnace (GFAAS) and Mn by flame atomic absorption (FAAS).

Before the elemental analysis of the samples by Atomic absorption spectrometry, there was a decomposition step / digestion. Was studied the suitability of four processes of digestion samples.

**Keywords:** Methods Validation, Atomic Absorption Spectrometry; Biomass samples; Quality assurance program; Metals; Processes digestion.



## Índice

Resumo .....	v
Abstract .....	vii
Abreviaturas .....	xvii
Símbolos .....	xix
1. Introdução .....	1
1.1. Enquadramento .....	1
1.2. Uso de biomassa como combustível .....	2
1.3. Objectivo .....	4
1.4. Espectrometria de Absorção Atómica.....	5
1.4.1. Processo de Absorção Atómica .....	6
1.4.2. Instrumentos de Espectrometria de Absorção Atómica.....	7
1.4.2.1. Fonte de Radiação .....	8
1.4.2.2. Atomização .....	9
1.4.2.3. Interferências.....	12
1.5. Validação de um Método Analítico e Controlo de Qualidade.....	15
1.5.1. Selectividade e Especificidade .....	17
1.5.2. Função de Calibração: Método da curva de calibração .....	17
1.5.2.1. Avaliação da linearidade.....	18
1.5.2.2. Avaliação da homogeneidade das variâncias .....	19
1.5.2.3. Faixa linear dinâmica .....	20
1.5.2.4. Características das funções de calibração .....	20
1.5.3. Limites de Detecção e Limite de Quantificação.....	22
1.5.4. Precisão .....	24
1.5.5. Veracidade .....	24
2. Parte Experimental .....	25
2.1. Reagentes e Soluções.....	25
2.2. Material e Equipamentos.....	26
2.3. Limpeza e descontaminação do material .....	28
2.4. Amostras .....	28
2.5. Plano para a caracterização química das amostras.....	29
2.6. Determinação do teor em humidade.....	30
2.7. Determinação do teor em cinzas.....	30
2.8. Determinação de Cd, Cr, Pb, Sb e Mn por Espectrometria de Absorção Atómica.....	31

2.8.1.	Procedimento I: Digestão ácida em vaso aberto com $\text{HNO}_3$ .....	31
2.8.2.	Procedimento II: Digestão ácida em vaso aberto com $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$ .....	32
2.8.3.	Procedimento III: Digestão ácida em vaso aberto com $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4/\text{HF}$ .....	33
2.8.4.	Procedimento IV: Digestão ácida em vaso fechado .....	33
2.8.5.	Espectrometria de Absorção Atômica de Chama .....	34
2.8.5.1.	Preparação do Espectrómetro .....	34
2.8.5.2.	Calibração analítica.....	35
2.8.6.	Espectrometria de Absorção Atômica de Câmara de Grafite .....	35
2.8.6.1.	Preparação do Espectrómetro .....	35
2.8.6.2.	Calibração analítica.....	36
2.8.6.3.	Ensaio com a amostra .....	36
2.8.6.4.	Avaliação do efeito de matriz – ensaios de recuperação .....	36
2.8.7.	Cálculos do teor de Cd, Pb, Cr nas amostras. ....	37
2.8.7.1.	Método da curva de calibração.....	37
2.8.7.2.	Método da curva de calibração após a subtração dos brancos.....	37
2.8.7.3.	Cálculos.....	37
2.8.7.4.	Apresentação dos resultados .....	38
3.	Resultados e Discussão.....	39
3.1.	Determinação Gravimétrica.....	40
3.1.1.	Determinação da Humidade.....	40
3.1.2.	Determinação do teor de cinzas .....	40
3.2.	Validação e controlo de qualidade em AAS .....	41
3.2.1.	Funções de calibração .....	41
3.2.2.	Limites de Detecção e de Quantificação.....	44
3.2.3.	Controlo de qualidade associado à Curva de Calibração .....	45
3.2.3.1.	Estabilidade da Função de Calibração .....	45
3.2.3.2.	Avaliação das Contaminações .....	46
3.2.3.3.	Efeitos de Matriz.....	49
3.2.4.	Precisão do Método de Espectrometria de Absorção Atômica .....	53
3.2.5.	Avaliação dos métodos de digestão das amostras.....	54
4.	Conclusões .....	59
4.1.	Caracterização química das amostras de biomassa.....	59
4.1.1.	Funções de calibração em Espectrometria de Absorção Atômica.....	60
4.1.2.	Controlo de qualidade associado à Curva de Calibração .....	61
4.2.	Notas finais .....	64
5.	Bibliografia.....	65
6.	Anexos .....	68

6.1.	Anexo I – Traçado das curvas de calibração .....	68
6.2.	Anexo II – Ensaio de digestão de padrão controlo misto.....	70
6.3.	Anexo III – Taxas de recuperação das amostras .....	71
6.4.	Anexo IV – Diferenças Relativas .....	74
6.5.	Anexo V – Concentração de Cd, Pb e Cr nas amostras tal qual .....	76





## Índice de Figuras

Figura 1.1: Esquema representativo dos componentes básicos de um espectrómetro de absorção atômica. ....	7
Figura 1.2: Esquema representativo do processo que ocorre na lâmpada de cátodo oco [29]. ....	8
Figura 1.3: Esquema representativo do processo que ocorre na lâmpada de cátodo oco [30]. ....	9
Figura 1.4: Processos que ocorrem durante a atomização em chama [22]. ....	10
Figura 1.5: Esquema do queimador do equipamento de FAAS [31]. ....	10
Figura 1.6: Posicionamento do capilar do amostrador automático no interior do tubo de grafite [31]. ....	11
Figura 1.7: Programa de temperaturas típico de atomização electrotérmica: 1 - secagem, 2 – calcinação ou pirólise, 3 - atomização, 4 – limpeza [35]. ....	12
Figura 1.8: Atomizador da câmara de grafite: (1) janela, (2) fluxo de gás interno, (3) fluxo de gás externo, (4) anel, (5) tubo de grafite, (6) forno de grafite, (7) feixe de luz [36]. ....	12
Figura 1.9: Fluxograma representativo das acções referentes ao Programa de Garantia de Qualidade [43]. ....	16
Figura 2.1: Amostras de biomassa: (A) Resíduos urbanos; (B) Bagaço de azeitona e (C) Carvão de azeitona. ....	29
Figura 2.2: Plano utilizado na caracterização química das amostras. ....	29
Figura 3.1: Faixa linear dinâmica em: a) Espectrometria de absorção atômica de câmara de grafite; b) Espectrometria de absorção atômica de chama. ....	44
Figura 3.2: Erros relativos dos padrões de calibração em vários ensaios de cada elemento analisado. ....	46



## Índice de Tabelas

Tabela 1.1: Parâmetros da função linear de 1º grau.....	20
Tabela 1.2: Parâmetros da função polinomial de 2º grau e da função racional.....	21
Tabela 1.3: Equações de determinação do Limite de detecção e limite de quantificação para a função linear de 1º grau.....	23
Tabela 1.4: Equações de determinação do Limite de detecção e limite de quantificação para a função linear polinomial de 2º grau e para a função racional.....	23
Tabela 2.1: Descrição dos parâmetros instrumentais da Espectrometria de absorção atômica de câmara de grafite.....	27
Tabela 2.2: Programa de temperaturas utilizado na Espectrometria de absorção atômica de câmara de grafite.....	27
Tabela 2.3: Condições instrumentais utilizadas na Espectrometria de absorção atômica de chama.....	28
Tabela 2.4: Programa de temperaturas.....	30
Tabela 2.5: Programa de aquecimento do forno do micro-ondas.....	34
Tabela 2.6: Modificadores utilizados na análise dos elementos por Espectrometria de absorção atômica de câmara de grafite.....	36
Tabela 3.1: Teor de humidade de cada amostra a 105°C.....	40
Tabela 3.2: Teor de Cinzas de cada amostra a 550±10°C.....	40
Tabela 3.3: Avaliação da homogeneidade das variâncias e da linearidade nas funções de calibração.....	42
Tabela 3.4: Parâmetros das funções de calibração.....	43
Tabela 3.5: Limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ).....	45
Tabela 3.6: Concentração do padrão de calibração para cada elemento analisado.....	46
Tabela 3.7: Valores de absorvância referentes ao branco de amostras, <i>B<sub>amostra</sub></i> , para cada elemento e método em estudo.....	48
Tabela 3.8: Valores de absorvância referentes ao branco de calibração, <i>B<sub>rc</sub></i> , para cada elemento e método em estudo.....	48
Tabela 3.9: Avaliação dos efeitos de matriz para cada método de digestão usado para as amostras A, B e C.....	50
Tabela 3.10: Avaliação dos efeitos de matriz para cada método de digestão usado para as amostras Cinza A Cinza B e Cinza C.....	50
Tabela 3.11: Concentração dos elementos na solução amostra A,B e C com e sem a correção do efeito de matriz.....	51
Tabela 3.12: Concentração dos elementos na solução amostra Cinza A,B e C com e sem a correção do efeito de matriz.....	52
Tabela 3.13: Diferenças relativas obtidas para cada conjunto de concentrações dos elementos nas amostras.....	54
Tabela 3.14: Concentração de Cd expressa em relação à amostra seca obtidas a partir da digestão das amostras tal qual ou das respectivas cinzas.....	55
Tabela 3.15: Concentração de Pb expressa em relação à amostra seca obtidas a partir da digestão das amostras tal qual ou das respectivas cinzas.....	56
Tabela 3.16: Concentração de Cr expressa em relação à amostra seca obtidas a partir da digestão das amostras tal qual ou das respectivas cinzas.....	56
Tabela 4.1: Valores de concentrações dos elementos Cd, Pb e Cr obtidas nas amostras de biomassa e valores típicos.....	63



## Abreviaturas

AAS	Espectrometria de Absorção Atômica
<i>Background</i>	Ruído de fundo
BRF	Biomassa florestal residual
CDR	Combustível derivado de resíduos
CEN	Centro de Normalização Europeu
CITAC	<i>Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry</i>
COM	Comunicação da Comissão das Comunidades Europeias
EN	<i>European Standard</i>
EURACHEM	<i>A focus for analytical chemistry in Europe</i>
F	Valor tabelado da distribuição de Snedecor/Fisher
FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica de chama
GFAAS	Espectrometria de Absorção Atômica de câmara de grafite
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
LNEG	Laboratório nacional de energia e geologia
log	Logaritmo decimal
MR	Material de referência
MRC	Material de referência certificado
MRCs	Materiais de referência certificados
NP	Norma Portuguesa
RELACRE	Associação de Laboratórios Acreditados de Portugal
RSD	Desvio padrão relativo
TFM	Frascos de polietileno modificado
TV	Valor teste para avaliar a homogeneidade das variâncias
TV'	Valor teste para avaliar a linearidade
TS	<i>Technical Specification</i>

VIM                      Vocabulário Internacional de Metrologia

## Símbolos

$a$	Ordenada na origem de uma recta
$abs$	Absorvância
$A$	Absorvância
$A_{ad}$	Percentagem de cinzas na amostra tal qual
$A_d$	Percentagem de cinzas na amostra seca
$b$	Declive de uma recta ou percurso óptico
$Br_{amostra}$	Branco da amostra
$Br_c$	Branco de calibração
$c$	Concentração da substância absorvente no meio
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
$C_0$	Concentração característica
$c_{x_1}$	Concentração mais baixa do analito na gama de trabalho
$\bar{C}_{obs}$	Concentração média obtida com a amostra fortificada
$\bar{C}_x$	Concentração do analito na amostra em estudo
$C_{adição}$	Concentração do padrão adicionado à amostra
$\Delta$	Variação
$DS^2$	Diferença das variâncias entre $S_{y1}^2$ e $S_{y2}^2$
$E$	Energia
$E_0$	Energia no estado fundamental
$E_1$	Energia no estado excitado
$E(\bar{x})$	Sensibilidade
$F$	Distribuição de Fisher
$F_{dil}$	Factor de diluição
$h\nu$	Energia do fóton
$I_0$	Intensidade da radiação monocromática que incide na amostra
$I$	Intensidade da radiação transmitida pela amostra
$k$	Constante



$K$	Constante de Boltzman ou graus Kelvin
$k_c$	Factor de expansão de graus de liberdade
$\lambda$	Comprimento de onda
$m$	Massa da amostra
$m_a$	Massa da amostra utilizada na digestão
$m_1$	Massa em gramas da cápsula sem amostra
$m_2$	Massa em gramas da cápsula com a amostra antes da secagem
$m_3$	Massa em gramas da cápsula com a amostra seca
$Mad$	Percentagem de humidade calculada nas amostras
$n$	Número de ensaios de branco de calibração
$N$	Número de pares ordenados na recta de calibração; numero de replicados; número de pontos de uma serie; número de medidas de absorvância da amostra
$N^*$	Número de átomos no estado excitados
$N_0$	Número de átomos no estado fundamental
$P_{\text{calibração}}$	Padrão de calibração
$P^*$	Peso estatístico do estado 1
$P_0$	Peso estatístico do estado 0
$r$	Coefficiente de correlação do método
$R$	Recuperação
$R_m$	Taxa de recuperação
$R^{\text{rel}}$	Diferença ou amplitude relativa
$s$	Desvio padrão associado
$s_B$	Desvio padrão do conjunto de medidas de absorvância do ensaio em branco
$S_m^2$	Variância associada ao padrão menor concentração
$S_M^2$	Variância associada ao padrão maior concentração
$S_{x_0}$	Desvio padrão do método
$S_{y1}$	Desvio padrão residual da função de calibração de primeira ordem
$S_{y2}$	Desvio padrão residual da função de calibração polinomial de segunda ordem
$S_{y3}$	Desvio padrão residual da função de calibração racional
$T$	Temperatura absoluta ou Transmitância

$V_A$	Volume do balão volumétrico
$V_{x_0}$	Coefficiente de variação do método
$w$	Concentração do analito na amostra obtida pela curva de calibração
$w_{crg}$	Valor de concentração do analito em mg/L na solução de ataque obtida por interpolação de calibração
$w_{max}$	Concentração máxima do analito nas amostras em duplicado ou triplicado
$w_{min}$	Concentração mínima do analito nas amostras em duplicado ou triplicado
$w_{seco}$	Concentração dos elementos expressa em relação às amostras em base seca
$\bar{w}$	Valor médio da concentração dos elementos nas amostras em base seca
$\bar{w}_{media}$	Média do conjunto de resultados
$\bar{w}_{tipica}$	Valor médio típico da concentração do elemento na amostra seca
$x$	Valor de concentração
$x_i$	Concentração inicial
$\bar{x}$	Valor médio de concentração ou de absorvância
$y_i$	Absorvância
$\bar{y}$	Valor médio do conjunto de resultados
$\bar{y}_B$	Valor médio das absorvâncias dos ensaios em branco
$\hat{y}_i$	Valor estimado de $y_i$



## 1. Introdução

### 1.1. Enquadramento

A crescente preocupação com os problemas ambientais, principalmente os que estão relacionados com a emissão de dióxido de carbono para a atmosfera, o aumento do preço dos combustíveis fósseis, e o declínio das reservas petrolíferas tem levado a uma crescente procura e aproveitamento, mais eficaz e eficiente, de fontes de energia renováveis que apresentem um menor impacto ambiental.

Tendo em conta esta realidade, a Europa foi pressionada no sentido de desenvolver o sector energético, tendo por base novas fontes que permitam reduzir a dependência energética, particularmente as que têm menor impacto no ambiente [1].

Assim, a política energética europeia, na qual Portugal se insere, tem avançado em três direcções distintas: a competitividade, que leva ao crescimento económico e à criação de emprego; a segurança do abastecimento, reduzindo a dependência energética dos países; e a sustentabilidade, comprometendo-se com a redução de emissões de gases com efeito de chuva. Estes três objectivos encontram-se referidos tanto no *Livro Branco para uma Estratégia Comunitária e um Plano de Acção* (CCE, 1997), bem como na comunicação *Uma Política Energética para a Europa* (CCE, 2007). Através do *Livro Branco* [2], a Europa estabeleceu como objectivos, o uso de 12% de energias renováveis no consumo primário, até 2010, e 20% até 2020. Estes objectivos irão ser conseguidos a através da promoção de energias renováveis em três áreas diferentes: electricidade, aquecimento/refrigeração e transportes [3].

Entre as principais fontes renováveis, tendo em vista o desenvolvimento sustentável do sector energético, encontra-se a biomassa. De acordo com Directiva Europeia 2009/28/CE [4], define-se biomassa como a “fracção biodegradável de produtos, resíduos e detritos de origem biológica, provenientes da agricultura (incluindo substâncias vegetais e animais), silvicultura, pesca e a aquicultura; tal como a fracção biodegradável dos resíduos industriais e urbanos”. Pode ser classificada em três categorias principais quanto à sua forma: biocombustíveis sólidos, líquidos e gasosos. Os primeiros são constituídos pela biomassa lenhosa, herbácea, de fruta e misturas. Os biocombustíveis líquidos, por sua vez, englobam principalmente o biodiesel e o bioetanol, e os biocombustíveis gasosos o biogás [5].

A biomassa representa uma das fontes de energia renovável com maior potencial, sendo a sua utilização fortemente incentivada na Europa. Pois ao comparar com outras fontes de energia renováveis, a utilização de biomassa corresponde a uma alternativa económica e tecnicamente viável, que contribui para a redução das emissões globais de CO<sub>2</sub>, que é a principal meta do *Protocolo de Quioto* [6].

Sendo assim, a Comissão Europeia, consciente de que a biomassa pode dar um contributo maior para a produção de energia primária, elaborou um *Plano de Acção para a Biomassa* [7] onde, para além de vincar a importância da biomassa no cumprimento das metas estabelecidas, definiu um conjunto de medidas com o objectivo de promover e desenvolver a produção de energia a partir desse recurso.

Actualmente, a biomassa ocupa a quarta posição mundial como recurso energético, fornecendo cerca de 14% das necessidades de energia mundial, sendo considerada a fonte mais importante de energia em países em desenvolvimento, proporcionando 235% da sua energia. O uso da biomassa proporciona benefícios significativos pois, como já foi referido, ajuda na renovação de CO<sub>2</sub> na atmosfera e não contribui para o efeito de estufa [8].

Portugal, tal como a Europa, está cada vez mais dependente de hidrocarbonetos importados, e está entre os países europeus com maior dependência energética do exterior, segundo dados publicados pela Comissão Europeia [9]. Em 2011, o país apresentou uma taxa de 77,4% de dependência energética externa [10].

Perspetiva-se que a partir de 2015, com o desenvolvimento das fontes de energia renovável, bem como a produção de energia proveniente destas fontes, contribua para evitar importações dos mais diversos tipos de energia. Para 2020, Portugal tem como ambição atingir um valor de produção de energia renovável na ordem dos 60% do consumo interno de electricidade. Podemos, então, facilmente, chegar à conclusão de que o investimento neste tipo de energias é essencial para um futuro sustentável de Portugal [11].

## **1.2. Uso de biomassa como combustível**

Existem algumas características que fazem com que a biomassa seja um bom combustível tais como: a facilidade de secagem; o elevado poder calorífico; a baixa temperatura de ignição; o elevado teor em matéria volátil; a elevada taxa de combustão, e a baixa energia de activação [12]. No entanto, factores como a humidade, granulometria, densidade e heterogeneidade dos materiais podem limitar a eficiência da sua combustão. Além da humidade e do poder calorífico, a biomassa é também caracterizada pela sua estrutura física, peso, volume, densidade e teor de cinzas [13].

Estudos sobre a composição da biomassa revelaram algumas considerações gerais: (1) a composição química da biomassa e dos seus componentes, especialmente cinzas, é altamente variável, devido a variações de humidade, da quantidade/qualidade da cinza obtida, e diferentes tipos de matéria inorgânica e orgânica presente na biomassa; (2) as diferentes composições químicas entre vários tipos de biomassa estão relacionadas com a fonte, origem; (3) existem elementos que se encontram em maior e menor concentração na biomassa [14].

O poder calorífico é uma propriedade importante que deve ser avaliada nos combustíveis derivados da biomassa, bem como a quantidade de água que possa estar presente, uma vez que a humidade é a principal responsável pela redução do poder calorífico da biomassa [15]. A biomassa é um produto natural e geralmente apresenta na sua composição partículas

higroscópicas [16], ou seja, partículas que absorvem água com muita facilidade, o que faz com que a humidade desta varie em função da humidade presente na atmosfera. Devido a esse facto, quando se determina a humidade em amostras de biomassa, esta tem que ser feita em simultâneo com os restantes ensaios.

Os biocombustíveis mais comuns na Europa (madeira, casca, palha e cereais) contêm concentrações muito semelhantes de C, H e O, mas apresentam diferenças significativas de vários metais pesados na sua composição, bem como nas cinzas a que dão origem.

Estes elementos inorgânicos vão influenciar no processo de combustão através da formação de emissões gasosas e sólidas, o que pode afectar significativamente o comportamento de fusão das cinzas. Por conseguinte, é muito importante conhecer as quantidades de elementos inorgânicos em diferentes biocombustíveis, a fim de escolher o biocombustível certo, ou seja, através da análise elementar feita por várias técnicas analíticas, pelo estudo das reacções e os efeitos que estes causam durante a combustão. Esta informação também é muito valiosa para o sector da produção de biomassa [17].

O teor de cinzas totais na biomassa vai depender da origem da própria biomassa, por exemplo, determinados componentes que uma planta pode absorver a partir da água ou do solo, durante o seu crescimento, ou até mesmo do solo ou outros resíduos recolhidos juntamente com a biomassa. A massa do resíduo inorgânico permanece após a ignição de um combustível e é, sob condições específicas, expressa em percentagem mássica de matéria seca no combustível [18].

A determinação de metais nas amostras de biomassa, e nas respectivas cinzas, incluem uma etapa de oxidação, seguida de uma análise por espectrometria de absorção atómica. A oxidação é normalmente executada através da digestão da amostra com uma mistura de ácidos fortes, tais como ácido clorídrico, ácido fluorídrico, ácido sulfúrico, nítrico e perclórico. Esta pode ser realizada em vaso aberto ou fechado. A utilização de fornos de micro-ondas, para efectuar a digestão ácida em vaso fechado, encurta o tempo total de análise assim como o risco de contaminação da amostra nesta etapa. Geralmente, os sistemas de digestão fechados são utilizados para a determinação total de elementos voláteis para evitar perdas de metais mais voláteis, enquanto os sistemas abertos permitem a análise de uma grande quantidade de amostras, e ajuda na evaporação do ácido até à secura.

Neste trabalho, pretendia-se efectuar a caracterização química em amostras de biomassa florestal, a fim de esta ser utilizada como matéria-prima para biocombustíveis. A biomassa florestal corresponde a toda a matéria florestal que é possível de ser utilizada para fins energéticos.

Uma vez que no início do trabalho não se encontravam disponíveis amostras de biomassa florestal, o estudo foi realizado em três tipos de amostras de biomassa: resíduos urbanos, bagaço de azeitona e caroço de azeitona. Pois o objectivo fulcral do trabalho consiste na validação do método analítico para a determinação de elementos vestigiais em amostras de biomassa.

Os resíduos urbanos, que são classificados como um combustível derivado de resíduos (CDR), são combustíveis sólidos que têm origem a partir de resíduos não perigosos, com a finalidade de ser utilizado em unidades de incineração e co-incineração com recuperação de energia de acordo com as especificações exigidas na norma NP 4486:2008 [19]. Este tipo de biocombustíveis possui um elevado poder calorífico sendo assim uma fonte de energia interessante [20].

O bagaço de azeitona e caroço de azeitona representam uma fonte de energia interessante, pois a União Europeia lançou uma série de medidas para incentivar o uso de fontes de energia renováveis, incluindo o Decreto CE 2003/30 e o Decreto proposto a 23 de janeiro de 2008, que entrou em vigor em 2010. Essas medidas proporcionaram uma oportunidade importante para as indústrias alimentares e agrícolas que podem, assim, reutilizar subprodutos, bem como proporcionar, com estes, uma alternativa no uso dos combustíveis sólidos [21]. E um dos exemplos é a indústria de produção de azeite, que promoveu a exploração de certos subprodutos obtidos durante a produção do azeite, tais como o bagaço e o caroço de azeitona, que podem ser usados como biocombustível.

O bagaço de azeitona é um subproduto cuja composição depende do sistema de extração do azeite; no entanto, este é composto basicamente pelas cascas, resíduos de polpa e fragmentos do caroço de azeitona usado durante a produção de azeite. É um material muito húmido, de pH ácido, rico em matéria orgânica, onde quase metade é lenhina e tem um poder calorífico de aproximadamente 4.300 kcal/kg [22]. Portanto, representa uma fonte de energia igualmente interessante.

O caroço de azeitona tem origem na pasta de azeitona ou no bagaço de azeite virgem e é, geralmente obtido nas próprias fábricas, através de máquinas específicas que realizam várias operações mecânicas, tais como a centrifugação. Este combustível pode ser utilizado na própria produção do óleo, para aquecer a água utilizada na moagem da azeitona ou ser comercializado como um combustível alternativo às *pellets* de madeira. Também pode ser usado para produzir gás de síntese (mistura combustível de gases) ou de celulose, hemicelulose açúcar, etc. [21]. É ainda considerado um dos melhores biocombustíveis utilizados nas caldeiras de biomassa, visto que 2 kg de caroços de azeitona tem o mesmo valor calorífico de um litro de gasóleo [23].

### **1.3. Objectivo**

Os elementos metálicos presentes nos biocombustíveis têm recebido uma maior atenção nos últimos anos, devido à crescente consciência científica, questões ambientais e a um grande desenvolvimento nas técnicas analíticas, para medir com fiabilidade as suas concentrações [6]. Sendo assim, a determinação da presença/vestigios de elementos, que se encontram em menor e maior concentração na biomassa, é de extrema importância, porque permite avaliar a presença de determinados elementos tóxicos que podem ter impacto tanto a nível ambiental como influenciar sobre a utilidade da biomassa para a produção de

biocombustíveis [13], como da própria cinza, pois a cinza de biomassa, que não esteja contaminada, pode ser usada como fertilizante [4].

O presente trabalho tem como principais objectivos: a valorização de amostras de biomassa como matéria-prima para biocombustíveis, através da validação de um método analítico para determinação de elementos em concentrações menores e/ou vestígios, Cd, Cr, Mn Pb e Sb, utilizando como técnica analítica a espectrometria de absorção atómica de acordo com a Norma EN ISO- 15297:2011; estudar e implementar etapas de programas de garantia e de controlo de qualidade e avaliação dos parâmetros metrológicos.

O trabalho está dividido em quatro capítulos, apresentando-se, no primeiro capítulo, o enquadramento, as informações sobre o uso de biomassa como combustível, os objectivos do trabalho, e a descrição do método analítico de espectrometria de absorção atómica de chama e de câmara de grafite, utilizada na determinação dos metais nas amostras de biomassa. Este capítulo incorpora ainda as bases teóricas da validação de métodos analíticos e controlo de qualidade, onde são descritas as ferramentas estatísticas usadas no processo de validação.

O capítulo dois inclui a parte experimental do trabalho.

O capítulo três incide na apresentação dos resultados e na discussão destes, e é constituído por duas partes. Na primeira encontra-se o estudo dos vários parâmetros da validação do método analítico, e os parâmetros do programa de controlo de qualidade, nomeadamente a função de calibração, avaliação de contaminações, através dos brancos de reagentes, e avaliação dos efeitos de matriz. A segunda parte deste capítulo refere-se à caracterização química das amostras de biomassa, ou seja, a determinação da humidade, teor de cinzas e análise elementar.

No capítulo quatro são apresentadas as conclusões do trabalho desenvolvido, quanto à adequabilidade do programa de controlo de qualidade aplicado à obtenção dos resultados fiáveis, bem como da possibilidade de aplicação das amostras de biomassa como matéria-prima para biocombustíveis. Apresentam-se ainda algumas sugestões para trabalhos futuros na área da valorização de amostras de biomassa.

#### **1.4. Espectrometria de Absorção Atómica**

A espectrometria de absorção atómica (AAS) é um método analítico utilizado para detectar, qualitativa e quantitativamente, elementos, através da absorção de radiação óptica por parte de átomos livres no estado gasoso. Permite determinar quantitativamente, com sensibilidade suficiente, mais de 60 a 70 elementos [24]. A sensibilidade destes métodos atinge tipicamente gamas de concentrações na ordem dos mg/L e µg/L.

Na AAS, uma radiação com um comprimento de onda característico, do elemento em estudo, é emitida e os átomos do elemento vão absorver alguma desta radiação; e, a quantidade de radiação absorvida por estes átomos é medida e usada para determinar a concentração do elemento na amostra em estudo [25].



Neste subcapítulo, são apresentados os princípios básicos, os fundamentos e uma descrição detalhada dos dois métodos mais comuns de espectrometria de absorção atômica: atomização de chama e electrotérmica.

#### 1.4.1. Processo de Absorção Atômica

A absorção atômica é o processo pelo qual átomos não excitados, presentes numa chama ou no tubo de grafite, absorvem radiação específica de uma fonte [26].

Para que ocorra absorção é necessário que os átomos estejam no estado mais baixo de energia, ou seja, a configuração electrónica mais estável do átomo conhecido como o estado fundamental, isto é os electrões dos átomos devem ser capazes de passar ao primeiro nível de energia por absorção de um fotão de frequência adequada. A diferença de energia,  $E_1 - E_0$ , é única para cada espécie, daí a selectividade do método de absorção atômica [22] e pode-se relacionar a energia de um fotão com o comprimento de onda, frequência e número de onda pela seguinte equação:

$$\Delta E = E_1 - E_0 = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad \text{Equação 1.1}$$

onde,  $E_1$  corresponde ao nível de energia mais baixo,  $E_0$  a energia do nível mais baixo,  $h$  é a constante de Planck ( $h = 6,63 \times 10^{-34}$  Js),  $\nu$  a frequência de radiação ( $s^{-1}$  ou Hz),  $\lambda$  é o comprimento de onda (nm),  $c$  a velocidade da luz ( $2,9979 \times 10^8$  m/s).

Quando uma população de átomos é inserida numa chama, como no método de absorção atômica de chama, a maior parte destes permanecem no estado fundamental e só alguns é que passam para um estado excitado.

A relação entre o número de átomos que existem no estado excitado,  $N^*$ , e no estado fundamental,  $N^0$ , para uma dada temperatura é dada pela Lei de Boltzmann Planck [27] :

$$N^* = N^0 \left( \frac{P^*}{P^0} \right) \exp \left( -\frac{E^* - E_0}{KT} \right) \quad \text{Equação 1.2}$$

onde,  $N^*$  e  $N_0$  correspondem ao número de átomos no estado excitados e fundamental, respectivamente;  $P^*$  e  $P_0$  são os pesos estatísticos que dependem do número dos estados degenerados;  $E^*$  e  $E_0$  são as energias associadas no estado excitado e fundamental (em Joule) respectivamente;  $T$  é a temperatura absoluta do sistema ( $^{\circ}K$ ) (fonte de atomização) e  $K$  é a constante de Boltzmann ( $1,38 \times 10^{-23}$  J/K).

A quantidade de radiação absorvida por uma substância a um dado de comprimento de onda é descrita pela Lei de Lambert-Beer. Esta pode ser calculada pela equação [28]:

$$A = -\log_{10} T = \log \frac{I_0}{I} \quad \text{Equação 1.3}$$

onde,  $I_0$  corresponde à intensidade da radiação monocromática que incide na amostra,  $I$  à intensidade da radiação transmitida pela amostra e  $T$  à transmitância do meio, fracção da radiação transmitida.

O tratamento matemático do processo de absorção de energia por espécies químicas é feito pela dedução da Lei de Lambert-Beer, através da Equação 1.4, que servem como base da análise quantitativa, para medidas feitas por absorção atómica. Portanto, medindo a quantidade de luz (ou radiação) absorvida, torna-se possível a determinação quantitativa do analito (elemento) presente. No entanto, esta não pode ser aplicada na espectrometria de absorção atómica, porque os átomos raramente se encontram distribuídos de uma forma homogénea, sendo assim impossível determinar o valor de  $a$  e  $b$ . Assim, esta pode ser aplicada, se admitirmos que todos os átomos existentes no meio atómico absorvente estão no estado fundamental.

$$A = abc$$

**Equação 1.4**

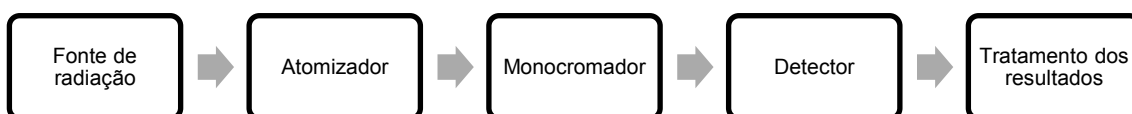
onde,  $a$  é uma constante de proporcionalidade, chamada de absorvidade,  $b$  percurso óptico e  $c$  é a concentração da substância absorvente no meio.

As unidades da constante  $a$  dependem das unidades de  $b$  e  $c$ . Quando a concentração é expressa em moles por litro e o percurso óptico em centímetros, a absorvidade é expressa em termos de absorvidade molar e é dada por um símbolo especial  $\epsilon$  ( $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ) [22].

Frequentemente, são observados desvios na proporcionalidade directa entre a absorvância e a concentração do analito em estudo, quando o percurso óptico  $b$  é mantido constante. E alguns desses desvios, designados por desvios reais, representam as limitações reais da Lei de Lambert-Beer. Outros desvios podem ainda ser causados devido ao método que é empregue para efectuar a análise das absorvâncias (desvios instrumentais), ou por alterações químicas que podem ocorrer com a variação da concentração dos analitos (desvios químicos) [25, 26].

#### 1.4.2. Instrumentos de Espectrometria de Absorção Atómica

Os instrumentos de espectrometria de absorção atómica compreendem cinco componentes básicos, que se encontram representados na Figura 1.1.



**Figura 1.1:** Esquema representativo dos componentes básicos de um espectrómetro de absorção atómica.

Como já foi referido anteriormente, para excitar os átomos é necessário fornecer radiação com um comprimento de onda específico, que corresponda à energia necessária para levar o átomo do estado fundamental para a maior energia. Deste modo, para cada um dos elementos a ser determinado por espectrometria de absorção atômica é necessário uma fonte de radiação específica, que permite uma determinação quantitativa de um determinado elemento na presença de outros.

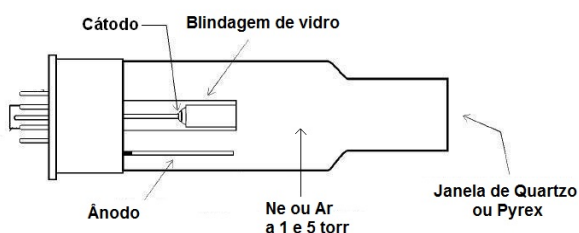
No atomizador, são gerados átomos gasosos no estado fundamental, que vão absorver a radiação com o comprimento de onda característico proveniente da fonte de radiação, e, consequentemente determinar-se a concentração do elemento de interesse. Neste trabalho utilizou-se dois tipos de atomizadores, o atomizador de chama e electrotérmica com câmara de grafite.

O monocromador vai separar a linha espectral de interesse das outras linhas emitidas pela fonte de radiação, através da utilização de um prisma ou rede de difracção associado a duas fendas estreitas que servem para a entrada e saída da radiação.

Um dos detectores utilizados nos espectrómetros de absorção atômica é o fotomultiplicador. Este converte os fótons da luz num sinal eléctrico que pode ser amplificado [25].

#### 1.4.2.1. Fonte de Radiação

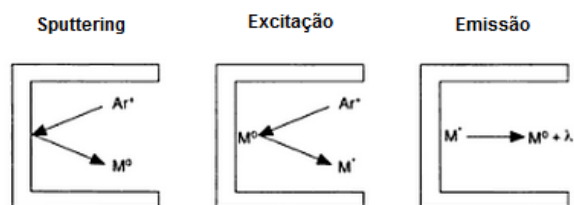
A fonte de radiação utilizada na absorção atômica foi a Lâmpada de Cátodo Oco, que consiste num cilindro de vidro que contém um gás nobre, néon ou argon, a uma baixa pressão, onde se encontra um cátodo na forma de um cilindro oco e um ânodo. O cátodo é feito do elemento (metal) que se pretende analisar/determinar; ou, então, por uma liga metálica, o que permite a determinação de mais de um elemento. Para elementos que emitem linhas na região do ultravioleta, a lâmpada deve conter uma janela de quartzo, enquanto para os restantes a janela é de vidro. O cátodo em geral é isolado com vidro ou cerâmica, para que a emissão se dê no interior do cátodo, melhorando a intensidade e definição das linhas [22].



**Figura 1.2:** Esquema representativo do processo que ocorre na lâmpada de cátodo oco [29].

Ao aplicar-se uma corrente eléctrica com uma elevada voltagem, entre 400 a 600 volts, ocorre uma descarga eléctrica e a ionização do gás nobre contido na lâmpada. Como resultado

os iões e os electrões vão migrar para os electrodos. Os iões positivos vão colidir com o cátodo e expõem alguns átomos metálicos da superfície deste e forma-se uma nuvem atómica, através de um processo de remoção designado por “*sputtering*”. Alguns dos átomos metálicos, que são removidos, encontram-se num estado excitado e vão então emitir radiação característica ao voltarem ao estado fundamental [27].



**Figura 1.3:** Esquema representativo do processo que ocorre na lâmpada de cátodo oco [30].

Além das lâmpadas de cátodo oco, é utilizado na espectrometria de absorção atômica a Lâmpada de Deutério, que é uma fonte de radiação contínua empregada para medir e corrigir a “absorção de *background*”. Quando esta lâmpada é usada deve ter o feixe luminoso perfeitamente alinhado em relação ao detector do aparelho [22].

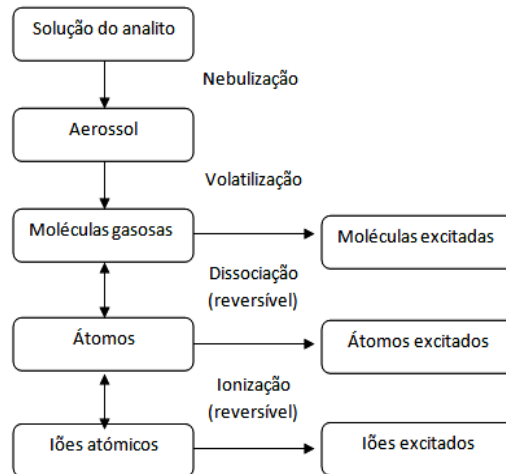
#### 1.4.2.2. Atomização

##### i) Atomização em chama

Em espectrometria de absorção atômica de chama, a solução da amostra, geralmente aquosa, é aspirada até à chama, através de um sistema de aspiração, nebulização, onde é convertida num aerossol, e de um queimador.

Num atomizador de chama, a solução da amostra é nebulizada por um fluxo de oxidante gasoso, misturada com um combustível igualmente gasoso, e é levada à chama onde vai ocorrer a atomização.

A amostra é lançada na chama que atinge temperaturas que variam entre 2100-2300°C e vai sofrer um conjunto de processos interrelacionados. Em primeiro lugar, ocorre a dessolvatação, na qual o solvente é evaporado e é produzido um aerossol molecular de pequenas partículas sólidas. A maior parte dessas partículas acaba por se dissociar, formando-se um gás atômico. Alguns dos átomos gerados acabam por ionizar e formar catiões e electrões. Também são produzidos outros átomos e moléculas, na chama, como resultado das interações do combustível com o oxidante e com as várias espécies que constituem a amostra [22].

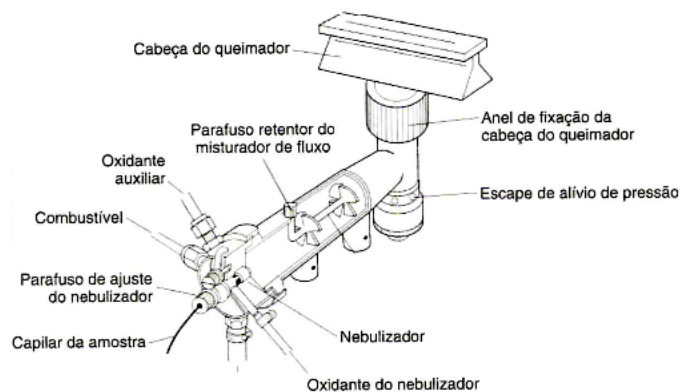


**Figura 1.4:** Processos que ocorrem durante a atomização em chama [22].

O tempo reduzido da permanência dos átomos na chama, é um facto que vai influenciar drasticamente a sensibilidade do método, tornando-o inadequado para aplicações quantitativas na gama dos  $\mu\text{g/L}$  [22][27]. Este método apresenta, portanto, limites de detecção demasiado altos para algumas aplicações.

Na Figura 1.5, está representado um queimador de fluxo laminar fixo, também denominado por *"pré-mix"*. Neste sistema de queimador, antes da "queima" é efectuada a nebulização numa câmara, onde são admitidos o combustível e o oxidante. A chama é alimentada por uma mistura prévia de gases, tornando-a bastante estável. É importante que o fluxo dos gases possua uma velocidade superior à da queima, pois, caso contrário, corre-se o risco de ocorrer retrocesso ou *"flash-back"* da chama, quando a combustão se dá na câmara de nebulização. Nos instrumentos modernos existem dispositivos de segurança para prevenir esse tipo de acidente [22].

Após a solução ser aspirada no sistema *"pré-mix"*, esta é fragmentada em gotas com tamanhos variáveis, de modo a obter um aerossol com gotículas de diâmetro entre 5 a 7  $\mu\text{m}$ , para conseguir obter uma máxima eficiência na evaporação do solvente e atomização do componente a ser determinado [22].



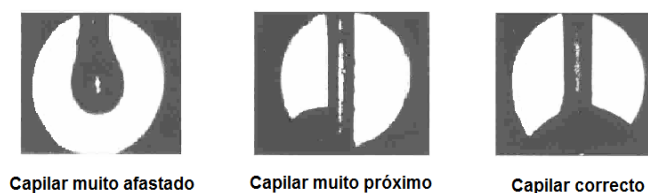
**Figura 1.5:** Esquema do queimador do equipamento de FAAS [31].

## ii) Atomização electrotérmica

Na espectrometria de absorção atómica de câmara de grafite, a amostra é sujeita a uma atomização electrotérmica. Nesta técnica, a amostra é introduzida no forno ou câmara de grafite, de preferência através de um sistema automático, para garantia de reprodutibilidade, onde vai ser submetida a um aquecimento progressivo previamente programado [32]. Recorre-se a este sistema, pois é difícil injectar manualmente e de forma reprodutível quantidades tão pequenas de amostra. Os sistemas de amostragem automática também permitem maior produtividade devido à automatização das calibrações, diluições e injeções sequenciais da amostra.

Uma característica importante na atomização electrotérmica é o facto de os átomos permanecerem no atomizador por um período relativamente longo, tornando técnica mais sensível do que a atomização em chama. Além disso, a introdução directa de um determinado volume de solução no tubo vai permitir eliminar problemas de viscosidade, tensão superficial e de densidade, que podem afectar significativamente a nebulização na atomização feita em chama.

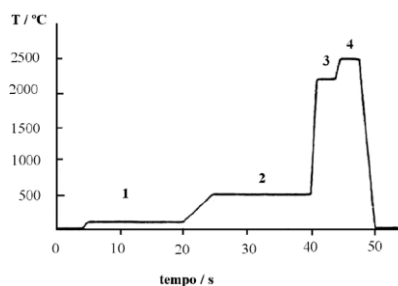
A injeção da amostra no interior do tubo de grafite é uma etapa muito importante, que poderá interferir na qualidade dos resultados. Se a posição do capilar no interior do tubo de grafite não for a correcta (Figura 1.6), ou seja se a gota não for depositada de uma forma simétrica, a reprodutibilidade e a sensibilidade obtidas não serão as melhores [33].



**Figura 1.6:** Posicionamento do capilar do amostrador automático no interior do tubo de grafite [31].

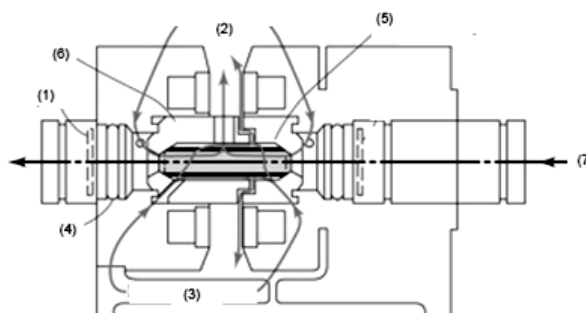
Neste trabalho, recorreu-se à utilização de um espelho de dentista, para a visualização do posicionamento do capilar no tubo de grafite.

No desenvolvimento de um método de análise por GFAAS, é necessário estabelecer um programa de aquecimento apropriado para controlar o tempo e a temperatura das etapas de secagem, de pirólise e de atomização (Figura 1.7). Esse programa compreende uma etapa que permite evaporar o solvente, bem como eliminar os constituintes da matriz, antes da atomização do analito, a fim de se reduzirem eventuais interferências. O programa de temperaturas escolhido depende do elemento que se vai analisar, e, nomeadamente, da matriz das amostras [34].



**Figura 1.7:** Programa de temperaturas típico de atomização eletrotérmica: 1 - secagem, 2 – calcinação ou pirólise, 3 - atomização, 4 – limpeza [35].

O atomizador de câmara de grafite ou eletrotérmico, (Figura 1.8), é composto por um tubo de grafite, ligações eléctricas, armazenamento de água fria e um fluxo de gás interno e externo, árgon (ou azoto), que têm como função minimizar a oxidação do forno de grafite e prevenir a formação de óxidos metálicos. O fluxo de gás também purga os vapores que são originados pela matriz das amostras [22][32].



**Figura 1.8:** Atomizador da câmara de grafite: (1) janela, (2) fluxo de gás interno, (3) fluxo de gás externo, (4) anel, (5) tubo de grafite, (6) forno de grafite, (7) feixe de luz [36].

#### 1.4.2.3. Interferências

No método de espectrometria de absorção atômica as interferências podem ser classificadas como físicas, químicas e espectrais.

##### i) Interferências Físicas

As interferências físicas estão associadas a alterações nas características físicas das amostras em estudo, tais como a diminuição ou aumento da sensibilidade de um elemento, devido ao facto de este possuir uma elevada viscosidade, concentração de sais e tensão superficial da solução da amostra [22].

Em FAAS, a presença de partículas sólidas na chama origina fenómenos de dispersão da luz proveniente da fonte luminosa, lâmpada de cátodo oco, aumentando assim a capacidade de absorção do analito em estudo. Para minimizar os efeitos, pode-se proceder à preparação

de soluções padrão de matiz idêntica às amostras em análise, e/ou através da correção do *Background* através do uso da Lâmpada de deutério ou de hidrogénio [37].

Na GFAAS, as alterações que possam ocorrer durante a introdução da amostra, sinais de background (absorção não específica) e efeitos de memória, podem originar os efeitos de interferência física. As interferências físicas que originam mais problemas são quando as amostras a analisar, possuem viscosidade e tensões superficiais diferentes das soluções padrões utilizadas na curva de calibração. Quando ocorre este tipo de interferências, pode haver alteração nos volumes injectados, ou diferenças na dispersão das soluções durante a fase de secagem do processo de atomização. Para minimizar o problema, pode-se proceder à destruição total ou parcial da matriz da amostra ou então diluir esta [27]. Neste trabalho, este tipo de interferência foi minimizado através da diluição da matriz das amostras.

As interferências mais graves em GFAAS são as causadas por “*absorção de Background*”. Podem ser atenuadas através da utilização de uma fonte contínua, a lâmpada de deutério, ou através do efeito de Zeeman. A correcção do fundo por efeito de Zeeman, apresenta uma série de vantagens em relação à correcção de fundo com fonte contínua, pois ao ser aplicado correctamente, permite que o sinal da absorção de fundo seja medido exactamente ao mesmo comprimento de onda e largura de banda do sinal de absorção atómica [27]. Os sistemas de correcção de Zeeman podem, portanto, corrigir espectros de absorção de fundo mais complexos e fornecer resultados analíticos mais precisos e exactos. Este tipo de correcção pode ser aplicado a todos os elementos, em todos os comprimentos de onda.

Outros tipos de interferências são os efeitos de memória, que ocorrem devido a uma incompleta atomização ou então a uma limpeza incorrecta do tubo de grafite, da qual pode resultar num reforço para a resposta do analito em análises posteriores. Este efeito pode ser minimizado aplicando uma temperatura elevada de atomização e de limpeza do tubo, ou seleccionando tempos longos para estas fases [24]. Durante o trabalho, este tipo de interferência foi minimizado através do uso de temperaturas de atomização e de limpeza elevadas.

## ii) Interferências Químicas

No método FAAS, as interferências químicas resultam de vários fenómenos químicos que podem vir a ocorrer durante o processo de atomização e podem causar alterações nas características de absorção do analito em estudo. Entre os fenómenos químicos que podem surgir, está a formação de compostos estáveis durante o processo de atomização. Um modo de atenuar estes efeitos é adicionar um excesso do interferente ou de um composto que ao reagir leve à formação de complexo preferencial, e, deste modo, libertar o elemento em estudo.

Um outro processo que leva a interferências químicas é a formação de átomos livres que resultam de processos de ionização. Este tipo de interferências deve-se à perda de um ou mais electrões dos átomos que se encontram excitados devido à absorção de energia radiante. Este fenómeno é extremamente grave, quando são analisados elementos com uma baixa



capacidade de ionização, como é o caso dos metais alcalinos. Estas interferências podem ser minimizadas através da adição, às amostras e aos brancos da digestão, de um elemento que facilmente sofre ionização, porque a presença de um excesso de electrões livres leva a uma diminuição do processo de ionização e aumenta, assim, a sensibilidade do analito que se está a estudar [34].

Em GFAAS, as interferências químicas podem ser causadas por vários processos químicos que ocorrem durante a atomização na câmara de grafite, como, por exemplo, a reacção do analito com os vários constituintes da matriz da amostra, com o material do tubo de grafite ou com o gás inerte que passa neste, o que vai alterar as características de absorção do analito.

As interferências químicas podem compreender dois fenómenos, como a formação de compostos voláteis, em que se pode perder total ou parcialmente o analito no tubo de grafite, antes de este atingir a temperatura de atomização, ou a formação de um composto estável, onde a atomização é totalmente ou parcialmente impedida ou retardada, através da formação de compostos de analito que não atomizaram à temperatura normal de atomização [24].

O principal modo de minimizar, ou mesmo eliminar este tipo de interferências, consiste no uso de modificadores químicos. Estes têm como função diminuir, ou até mesmo eliminar, interferências provocadas pela matriz ou contaminantes presentes na amostra, favorecendo um aumento da eficiência da etapa de pirólise, sendo possível empregar temperaturas maiores do que aquelas num processo sem o modificador [38].

### **iii) Interferências Espectrais**

Este tipo de interferências ocorre quando dois elementos presentes na amostra absorvam na mesma linha espectral escolhida. Desta forma a resolução por parte do monocromador torna-se impossível. Estas também podem resultar da presença de produtos da combustão, que podem exibir uma banda larga de absorção, ou de partículas que se tenham formado, e que espalham a radiação. Em ambos os casos, vai ocorrer uma diminuição na potência do feixe de radiação que é transmitido, induzindo assim a erros analíticos. Quando a fonte destes produtos é apenas a mistura do combustível e oxidante, as correcções são facilmente obtidas, fazendo as medidas da absorvância enquanto um branco é aspirado pela chama.

Um fenómeno mais complexo ocorre quando, a intensidade do feixe de radiação transmitido vai ser reduzida através de componentes da matriz, o que leva a erros na absorvância e na concentração do analito. Porém, estes tipos de interferências não são frequentes. Normalmente, são evitadas variando os parâmetros analíticos, tais como a temperatura e a razão combustível-oxidante, ou então, se a fonte de interferência for conhecida, adiciona-se um excesso de substância interferente, designada por tampão de radiação, aos padrões, às amostras e aos brancos de digestão. Deste modo, se o excesso adicionado for grande em relação à concentração da substância interferente na matriz das amostras, a contribuição da matriz será insignificante [22].

### **1.5. Validação de um Método Analítico e Controlo de Qualidade**

A validação de métodos analíticos consiste em demonstrar, que o método, nas condições em que é praticado, possui todas as características necessárias para fornecer resultados com qualidade adequada para os fins a que se destinam, isto é, o processo de validação pretende demonstrar que o método é adequado para a quantificação do analito na matriz, a um certo nível de concentração, com exatidão e precisão satisfatórias.

Com o objetivo de confirmar que os métodos aplicados são os apropriados é necessário que o laboratório valide [39]:

- Métodos não normalizados
- Métodos criados/desenvolvidos pelo próprio laboratório
- Métodos normalizados usados fora dos âmbitos para os quais foram concebidos

Um método normalizado é um método que foi desenvolvido por um organismo de normalização ou por outras organizações aceites pelo sector a que se destinam (Ex: ASTM, ISO, APHA); enquanto um método não normalizado é um método que é desenvolvido num laboratório ou adaptado a partir de métodos normalizados e validados, como é caso de métodos que tenham sido publicados em revistas científicas e métodos estabelecidos pelos fabricantes dos equipamentos [40].

Quando se realiza um ensaio/calibração de acordo com um método normalizado, é necessário verificar os registos da implementação do mesmo, de modo a demonstrar que cumpre as características pretendidas para fornecer resultados com qualidade. O laboratório, ao empregar métodos normalizados, necessita de demonstrar que tem condições de utilizá-los de maneira adequada, dentro das condições específicas existentes nas instalações, antes de os implantar.

Os requisitos mínimos para a validação de métodos internos de ensaio dependem do tipo de método em causa, como é o caso de se adoptar um método normalizado. Compreende o estudo e conhecimento de vários parâmetros [41]:

- 1) Selectividade /Especificidade
- 2) Função de Calibração (Gama de trabalho e Linearidade)
- 3) Limites analíticos: detecção e quantificação
- 4) Sensibilidade
- 5) Precisão (Repetibilidade/Reprodutibilidade)
- 6) Veracidade.

O controlo de qualidade dos resultados obtidos, permitem assegurar que as características metrológicas estabelecidas na etapa de validação se mantêm em rotina [42].

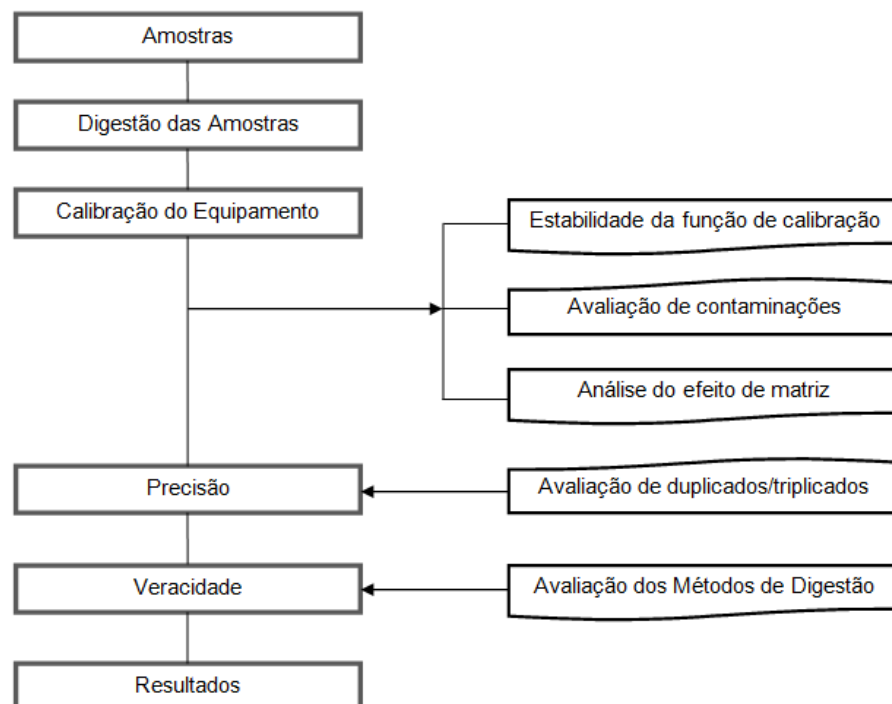
A validação é importante, não só para os laboratórios ou instituições, como para os clientes destes, na medida em que é fundamental saber seleccionar o método que melhor se adapta a cada análise e assegure a validade dos resultado.

Quando é implementado um determinado método analítico é fulcral implementar um controlo de qualidade deste. O controlo de qualidade descreve as medidas individuais que dizem respeito à qualidade das amostras individuais ou de lotes das amostras em que se está a fazer a análise dos elementos em estudo. O tipo de controlo de qualidade que é aplicado depende do estado crítico, natureza da análise, frequência das análises, quantidade de amostras, grau de automação e da dificuldade e confiabilidade dos ensaios realizados. Efectuar um controlo de qualidade do método, permite monitorizar o desempenho deste na rotina do laboratório.

As acções de controlo de qualidade dos métodos usados neste trabalho foram as seguintes [43] :

- 1) Estabilidade da função de calibração
- 1) Avaliação das contaminações
- 2) Análise do efeito de matriz
- 3) Precisão (Triplicados/duplicados)
- 4) Veracidade (Avaliação dos Métodos de digestão)

Na Figura 1.9, encontram-se o fluxograma onde está representado as acções de controlo de qualidade que foram realizadas.



**Figura1.9:** Fluxograma representativo das acções referentes ao Programa de Garantia de Qualidade [43].

### 1.5.1. Selectividade e Especificidade

A selectividade de um método analítico corresponde à capacidade deste para identificar e distinguir um determinado analito presente numa mistura complexa, sem que haja interferência dos outros componentes, eventualmente presentes na amostra a analisar. Um método, que seja seletivo para um analito ou grupo de analitos, é considerado como específico. No entanto, os termos especificidade e selectividade são frequentemente utilizados indistintamente ou com diferentes interpretações [40].

Quando é feita uma avaliação da especificidade e seletividade, geralmente abordam-se as questões sobre o que nós medimos e o que pensamos que medimos. Essas questões conduziram à evolução da definição de mensuranda. De acordo com o Vocabulário Internacional de Metrologia [44], define-se por mensuranda como a grandeza específica submetida à medição.

Ao entender os diferentes mecanismos que podem causar as interferências, pode-se chegar a uma conclusão e descobrir soluções para os problemas encontrados. O efeito dos erros constantes (interferências) e erros proporcionais (efeito de matriz) podem ocorrer ao mesmo tempo [41].

Neste trabalho, para analisar as interferências da matriz, realizou-se o teste de recuperação utilizando amostras, com a mesma matriz, em que apenas varia a concentração do analito. Os ensaios de recuperação são expressos em termos de percentagem em relação à quantidade de analito adicionado e é calculado pela seguinte equação [40]:

$$R_m (\%) = \frac{(\bar{C}_{obs} - \bar{C}_x)}{C_{adição}} \times 100 \quad \text{Equação 1.5}$$

onde,  $R_m$  corresponde à recuperação média,  $\bar{C}_{obs}$  é a concentração média obtida com a amostras fortificada (com a adição de uma determinada concentração do padrão em estudo),  $\bar{C}_x$  é a concentração do analito na amostra em estudo e  $C_{adição}$  é a concentração do padrão que é adicionado à amostra.

Quando as amostras têm percentagens de recuperação próximas dos 100%, indicam que não exibem efeito de matriz. Logo o método que se está a utilizar é mais selectivo [45].

### 1.5.2. Função de Calibração: Método da curva de calibração

A calibração em química analítica é uma das etapas do procedimento que mais pode influenciar os resultados, e determina a relação entre os valores medidos (intensidade do sinal instrumental  $y$ ) e a concentração dos analitos em estudo ( $x$ ). Com base nestes resultados,

calcula-se a relação matemática  $y=f(x)$ , a partir da qual é possível calcular a concentração do analito. A calibração inclui a seleção do modelo (isto é, a especificação da forma da função), a estimativa dos parâmetros do modelo e dos erros associados a essas estimativas, e a validação do modelo [46].

Para efectuar uma curva de calibração é necessário estabelecer uma gama de trabalho, que se define como sendo o intervalo de concentrações em que não existe diferenças significativas nas variâncias relativas entre o primeiro e o último padrão [37], e é avaliada através do teste de homogeneidade das variâncias. Para tal, utilizou-se a norma ISO 8466-1 [47] para modelos lineares e a norma ISO 8466-2 [48] para modelos polinomiais de 2º grau.

Neste trabalho estudou-se os seguintes modelos de função de calibração:

- i) Função linear de 1º grau,  $y = a + bx$
- ii) Função polinomial de 2º grau,  $y = a + bx + cx^2$
- iii) Função racional,  $y = \frac{(a+bx)}{(1+cx)}$

As Tabelas 1.1 e 1.2 apresentam as equações referentes aos modelos matemáticos das funções em estudo.

A função polinomial de 2º grau (Equação 1.19) foi apenas utilizada na avaliação da linearidade [47], pois nos casos em que foi necessário recorrer a uma função não linear, a função escolhida para o estudo foi a função racional. A função racional (Equação 1.20) é a função não linear utilizada no *Software* dos aparelhos de AAS usados no trabalho.

A dispersão dos valores do sinal instrumental é dada pelo desvio padrão residual  $S_y$  das funções de calibração [43].

Nas Tabelas 1.1 e 1.2, apresentam-se as fórmulas de cálculo para estimar o desvio padrão residual para o modelo da função linear  $S_{y1}$  (Equação 1.14) e da polinomial de 2º grau  $S_{y2}$  (Equação 1.23).

#### 1.5.2.1. Avaliação da linearidade

A linearidade foi avaliada através de um modelo estatístico, de acordo com a norma ISO 8466-1 [36]. Utilizou-se o teste de Fisher/Snedecor ou teste de Mandel. Em primeiro lugar, calcula-se a diferença de variâncias ( $DS^2$ ) entre a função linear de 1º grau e a polinomial de 2º grau, através da seguinte equação:

$$DS^2 = (N - 2)S_{y1}^2 - (N - 3)S_{y2}^2 \quad \text{Equação 1.6}$$

onde, N é o número de pontos de calibração.

Obteve-se posteriormente, o valor teste,  $TV'$  a partir de  $DS^2$  e  $S_{y_2}^2$ , através da seguinte equação :

$$TV' = \frac{DS^2}{S_{y_2}^2} \quad \text{Equação 1.7}$$

O valor  $TV'$  é comparado com o valor tabelado da distribuição de Fisher/Snedecor ( $f_1 = 1$ ,  $f_2 = N - 3$ ), para um grau de confiança de 99%, sendo os critérios de decisão os seguintes:

- Se  $TV' \leq F_{f_1 f_2; 0.99}$ : a função de calibração polinomial não conduz a um ajustamento significativamente melhor, e por isso, a função de calibração é linear;
- Se  $TV' > F_{f_1 f_2; 0.99}$ : a função de calibração é não linear e por isso a gama de trabalho deve ser reduzida tanto quanto possível de forma a cumprir a primeira alternativa. Caso não seja possível, deverá ser utilizada uma função de calibração não linear [45] [47].

### 1.5.2.2. Avaliação da homogeneidade das variâncias

As variâncias foram testadas para verificar se existem diferenças significativas entre elas, calculando o valor teste TV que posteriormente é comparado com o valor tabelado da distribuição de Snedecor/Fisher.

O valor teste TV é determinado através do Teste-F, através da seguinte equação:

$$TV = \frac{S_M^2}{S_m^2}, \text{ para } S_M^2 > S_m^2 \quad \text{Equação 1.8}$$

onde,  $S_M^2$  e  $S_m^2$  correspondem às variâncias associadas ao padrão de maior e menor concentração, respectivamente. E podem ser calculados pelas seguintes equações:

$$S_i^2 = \sqrt{\text{Equação 1.11}}, \text{ para } i = M \text{ ou } i = m \quad \text{Equação 1.9}$$

Após ter o valor de TV, compara-se este com o valor tabelado da distribuição F de Snedecor/Fisher onde os valores  $f_1$  e  $f_2$  correspondem a N-1 graus de liberdade e têm-se:

- Se  $TV < F_{f_1 f_2; 0.99}$ , então as diferenças entre as variâncias não são significativas e a gama de trabalho é aceite;
- Se  $TV > F_{f_1 f_2; 0.99}$ , então as diferenças entre as variâncias são significativas e a gama de trabalho deve ser reduzida até as variâncias entre o ponto mais baixo e o mais elevado permitirem que  $TV < F$  [45] [47].

### 1.5.2.3. Faixa linear dinâmica

A faixa linear dinâmica corresponde à gama de trabalho definida em termos de repetibilidade, e vai avaliar de uma forma indirecta a equivalência das variâncias ao longo de uma gama de trabalho. Foram medidas as absorvâncias de cada solução padrão da gama de trabalho e calculou-se: o valor médio das absorvâncias destas ( $\bar{y}$ ) para cada valor de concentração (Equação 1.10); o desvio padrão da média (Equação 1.14) e o desvio padrão relativo, RSD (Equação 1.11).

$$\bar{y} = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i)}{N} \quad \text{Equação 1.10}$$

$$RSD = \left( \frac{s}{\bar{y}} \right) \times 100 \% \quad \text{Equação 1.11}$$

onde,  $\bar{y}$  é o valor médio do conjunto de resultados e  $s$  o desvio padrão associado.

### 1.5.2.4. Características das funções de calibração

Em cada uma das funções de calibração são calculados e estudados vários parâmetros, a sensibilidades, desvio padrão residual, desvio padrão do método, coeficiente de variação do método, coeficiente de correlação e a concentração característica. Nas Tabelas 1.1 e 1.2 encontram-se as equações referentes aos vários parâmetros das funções de calibração.

**Tabela 1.1:** Parâmetros da função linear de 1º grau.

Parâmetros	Unidades	Fórmula geral	Função linear	Equação (nº)
<b>Modelo da Função</b>	-----	-----	$y = a + bx$	<b>1.12</b>
<b>Sensibilidade</b>	-----	$f(x) \text{ ' com } x = 0$	$b$	<b>1.13</b>
<b>Desvio padrão residual</b>	abs	$S_{y_0} = \sqrt{\frac{(y_i - f(x_i))^2}{N - k_c}}$	$S_{y_1} = \sqrt{\frac{(y_i - \hat{y}_i)^2}{N - 2}}$	<b>1.14</b>
<b>Desvio padrão do método</b>	mg/L	$S_{x_0} = \frac{S_{y_0}}{f(x) \text{ '}}$	$S_{x_0} = \frac{S_{y_1}}{b}$	<b>1.15</b>
<b>Coeficiente de variação do método</b>	%	$V_{x_0} = \frac{S_{x_0}}{\bar{x}} \times 100$	$V_{x_0} = \frac{S_{x_0}}{\bar{x}} \times 100$	<b>1.16</b>

Parâmetros	Unidades	Fórmula geral	Função linear	Equação (nº)
<b>Coefficiente de correlação</b>	-----	-----	$r = \frac{\sum[(xi - \bar{x}) \cdot (yi - \bar{y})]}{\sqrt{\sum(xi - \bar{x})^2 \sum(yi - \bar{y})^2}}$	<b>1.17</b>
<b>Concentração característica</b>	mg/L	$C_o = \frac{0,0044}{Declive}$	$C_o = \frac{0,0044}{b}$	<b>1.18</b>

$E(\bar{x})$ - Sensibilidade;  $S_{y_o}$  – Desvio padrão residual;  $S_{x_o}$ - Desvio padrão do método;  $V_{x_o}$ - Coeficiente de variação do método;  $r$ - Coeficiente de correlação do método;  $C_o$  – Concentração característica.

**Tabela 1.2:** Parâmetros da função polinomial de 2º grau e da função racional.

Parâmetros	Unidades	Função polinomial de 2º grau	Equação (nº)	Função Racional	Equação (nº)
<b>Modelo da Função</b>	-----	$y = a + bx + cx^2$	<b>1.19</b>	$y = \frac{(a + bx)}{(1 + cx)}$	<b>1.20</b>
<b>Sensibilidade</b>	-----	$E(\bar{x}) = b + 2c\bar{x}$	<b>1.21</b>	$E(\bar{x}) = b - ac$	<b>1.22</b>
<b>Desvio padrão residual</b>	abs	$S_{y_2} = \sqrt{\frac{(y_i - \hat{y}_i)^2}{N - 3}}$	<b>1.23</b>	$S_{y_3} = \sqrt{\frac{(y_i - \hat{y}_i)^2}{N - 3}}$	<b>1.24</b>
<b>Desvio padrão do método</b>	mg/L	$S_{x_o} = \frac{S_{y_2}}{b + 2c\bar{x}}$	<b>1.25</b>	$S_{x_o} = \frac{S_{y_3}}{\frac{(b - ac)}{((1 + cx)^2)}}$	<b>1.26</b>
<b>Coeficiente de variação do método</b>	%	$V_{x_o} = \frac{S_{x_o}}{\bar{x}} \times 100$	<b>1.27</b>	$V_{x_o} = \frac{S_{x_o}}{\bar{x}} \times 100$	<b>1.28</b>
<b>Coeficiente de correlação</b>	-----	$\sqrt{r^2}$	<b>1.29</b>	$\sqrt{r^2}$	<b>1.30</b>
<b>Concentração característica</b>	-----	$C_o = \frac{0,0044}{b + 2c\bar{x}}$	<b>1.31</b>	$C_o = \frac{0,0044}{b + ac}$	<b>1.32</b>

$E(\bar{x})$ - Sensibilidade;  $S_{y_o}$  – Desvio padrão residual;  $S_{x_o}$ - Desvio padrão do método;  $V_{x_o}$ - Coeficiente de variação do método;  $r$ - Coeficiente de correlação do método;  $C_o$  – Concentração característica.

A sensibilidade  $E(\bar{x})$  é uma característica que avalia a capacidade que um determinado método ou equipamento tem para distinguir pequenas diferenças na concentração de um analito e pode ser dada pelo declive da curva de calibração na concentração de interesse. O declive é definido como sendo a derivada de primeira ordem da curva de calibração nessa zona de concentração [40].



No entanto, em AAS, a sensibilidade pode ser ainda dada pela concentração característica  $C_o$  ou seja a concentração de um elemento em solução, que corresponde a absorção de 1% da radiação emitida da fonte de radiação, ou seja, 99% de transmitância ou 0,0044 de absorvância [49].

Como já foi referido anteriormente, o desvio padrão residual  $S_{y_o}$  fornece uma estimativa da dispersão dos valores do sinal instrumental em torno da curva de calibração.

O desvio padrão do método  $S_{x_o}$  é um parâmetro que permite ao analista verificar a qualidade do seu trabalho e coeficiente de variação do método,  $V_{x0}$  não é mais do que o desvio padrão método em percentagem, e permite comparar diferentes calibrações e métodos analíticos .

O coeficiente de correlação  $r$  é um dos parâmetros muitas vezes usados para avaliar a qualidade da calibração analítica, e pode tomar valores entre -1 e 1. Quando  $r$  é igual a 1, indica que todos os pontos da curva de calibração encontram-se exatamente sobre uma linha de declive positivo; quando  $r$  igual a 0, indica que existe falta de correlação entre a variável dependente (y), que corresponde ao sinal instrumental, e a variável independente (x), concentração do analito. [50].

### 1.5.3. Limites de Detecção e Limite de Quantificação

O limite de detecção (LD) de um método refere-se ao teor mínimo a partir do qual é possível detectar a presença do analito com uma certeza analítica. Este limiar analítico corresponde assim à menor quantidade de substância a analisar que pode ser detectada numa amostra. De acordo com as definições da IUPAC [44], o LD pode ser expresso quantitativamente em sinal de absorvância,  $y_L$ , pela seguinte equação:

$$y_L = \bar{y}_B + K \cdot s_B \quad \text{Equação 1.33}$$

onde ,  $\bar{y}_B$  corresponde ao valor médio das absorvâncias dos ensaios em branco,  $s_B$  o desvio padrão do conjunto de medidas de absorvância do ensaio em branco e  $K$  a uma constante que toma o valor de 3 para um nível de confiança de 99,7%, assumindo que a lei da probabilidade de  $\bar{y}_B$  é suficientemente conhecida e que a distribuição dos erros toma a forma de uma gaussiana [40] [43] [45].

O limite de quantificação de um método corresponde à mais pequena variação de sinal medido a partir da qual é possível quantificar o analito com determinada reprodutibilidade e exactidão. O limite de quantificação expresso em unidades de absorvância pode ser calculado pela Equação 1.33, em que a constante  $K=10$  para um nível de confiança de 99,7% [44] .

Nas Tabelas 1.3 e 1.4, encontram-se as equações para calcular os LD e LQ expresso em unidades absorvância e em concentração, para cada um dos modelos de função de calibração estudados neste trabalho. Estes limites foram calculados a partir do desvio padrão do branco ( $S_b$ ), utilizando o desvio padrão residual ( $S_{y_o}$ ), de acordo com o Miller and Miller ,1988 [51] e a

partir do *Software* do espectrómetro de absorção atômica de chama e de câmara de grafite (*Software*). O *Software* dos espectrômetros apenas apresentam os LD e LQ em medida de absorvância, sendo estes calculados em concentração pelas Equações 1.38.

**Tabela 1.3:** Equações de determinação do Limite de detecção e limite de quantificação para a função linear de 1º grau.

Método	Unidades	Função de 1º grau	Equação nº
$S_b$	abs	$y_L = a + K.S_{y_1}$	<b>1.34</b>
	mg/L	$x_L = \frac{y_L - a}{b}$	<b>1.35</b>
$S_{y_0}$	abs	$y_L = a + K.S_{y_1}$	<b>1.36</b>
	mg/L	$x_L = \frac{y_L - a}{b}$	<b>1.37</b>
<i>Software</i>	mg/L	$x_L = \frac{(S_B \times K \times C_0)}{(0,0044)}$	<b>1.38</b>

$y_L$  – Valores dos LD (k=3) ou LQ (k=10) em absorvância;  $S_b$  - Desvio padrão do branco;  $S_{y_0}$ - Desvio padrão residual; *Software* - Quantificação dos limites em concentração partir do equipamento de AAS.

**Tabela 1.4:** Equações de determinação do Limite de detecção e limite de quantificação para a função linear polinomial de 2º grau e para a função racional.

Método	Unidades	Função de 2º grau	Equação nº	Função Racional	Equação nº
$S_b$	abs	$y_L = a + K.S_{y_2}$	<b>1.39</b>	$y_L = a + K.S_{y_3}$	<b>1.40</b>
	mg/L	$x_L = \frac{a - y_L}{(y_L \times c - b)}$	<b>1.41</b>	$x_L = \frac{a - y_L}{(y_L \times c - b)}$	<b>1.41</b>
$S_{y_0}$	abs	$y_L = a + K.S_{y_2}$	<b>1.42</b>	$y_L = a + K.S_{y_3}$	<b>1.43</b>
	mg/L	$x_L = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4 \times (-K.S_{y_2}) \times (c)}}{2 \times c}$	<b>1.44</b>	$x_L = \frac{a - y_L}{(y_L \times c - b)}$	<b>1.45</b>
<i>Software</i>	mg/L	$x_L = \frac{(S_B \times K \times C_0)}{(0,0044)}$	<b>1.38</b>	$x_L = \frac{(S_B \times K \times C_0)}{(0,0044)}$	<b>1.38</b>

$y_L$  – Valores dos LOD (k=3) ou LOQ (k=10) em absorvância;  $S_b$  - Desvio padrão do branco;  $S_{y_0}$ - Desvio padrão residual; *Software* - Quantificação dos limites em concentração partir do equipamento de AAS.

#### 1.5.4. Precisão

De acordo com o Vocabulário Internacional de Metrologia [44], define-se a precisão de um método como o grau de concordância entre os resultados independentes obtidos por aplicação de um procedimento sobre uma mesma amostra, em condições de repetibilidade ou de reprodutibilidade. A precisão varia, geralmente, com a gama de concentrações.

Neste trabalho avaliou-se a precisão do método através das diferenças relativas,  $R^{rel}$ , dos ensaios em duplicado e triplicado das amostras, calculadas pela equação:

$$R^{rel} = \frac{w_{max} - w_{min}}{\bar{w}_{media}} \quad \text{Equação 1.46}$$

sendo,  $w_{max} - w_{min}$  a diferença entre a concentração do analito nas amostras em duplicado ou triplicado e  $\bar{w}_{media}$  a média do conjunto de resultados.

#### 1.5.5. Veracidade

A veracidade indica o grau de concordância entre o valor obtido por uma série de medições e o valor de referência da mensuranda aceite como convencionalmente verdadeiro [44]. A veracidade do método analítico pode ser avaliada e estudada através da análise de materiais de referência certificados (MRCs) e ainda pelo uso de ensaios de recuperação.

De acordo com o Vocabulário Internacional de Metrologia [44], o material de referência (MR) é todo o material ou substância com um ou mais valores das suas propriedades suficientemente homogêneos e bem definidos para a calibração de um equipamento, para a avaliação de um método de medição, ou para atribuição de valores a materiais, enquanto a definição de material de referência certificado (MRC) diz que é todo o material de referência, acompanhado por um certificado, do qual uma ou mais propriedades são certificadas por um procedimento que estabelece a sua rastreabilidade a uma realização exacta da unidade na qual os valores da propriedade se exprimem e para qual cada um dos valores certificados é acompanhado de uma incerteza para um dado intervalo de confiança.

Neste trabalho, não existiram disponíveis no laboratório onde decorreu o trabalho os MRCs com as características de matriz que seja semelhante às amostras em estudo, e não houve tempo também para adquirir MRCs adequados; e, devido a esse facto, não foi possível avaliar a veracidade através destes. Sendo assim, a veracidade do método analítico foi avaliada através da eficiência dos processos de digestão/decomposição das amostras.

## 2. Parte Experimental

### 2.1. Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados foram de qualidade analítica (p.a) ou ultrapura (u.p), e a água ultrapura de resistividade  $\geq 8 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ . Esta foi produzida pelo equipamento Millipore Milli-Q 50 ZD5111584 Ultra-Pure Water Purifier.

- 2.1.1. - Ácido Fluorídrico (HF), 40% (V/V), (u.p),  $\rho = 1,13 \text{ g/mL}$  (20°C), Merck;
- 2.1.2. - Ácido Nítrico ( $\text{HNO}_3$ ), 65% (V/V), (p.a),  $\rho = 1,41 \text{ g/mL}$  (20°C), Merck;
- 2.1.3. - Ácido Nítrico ( $\text{HNO}_3$ ), 65% (V/V), (u.p),  $\rho = 1,39 \text{ g/mL}$  (20°C), Merck;
- 2.1.4. - Ácido perclórico ( $\text{HClO}_4$ ), 70% (V/V), (u.p),  $\rho = 1,68 \text{ g/mL}$  (20°C), Merck;
- 2.1.5. - Peróxido de Hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), 30% (V/V), (p.a),  $\rho = 1,11 \text{ g/mL}$  (20°C), Merck;

As soluções padrão de calibração foram preparadas a partir de soluções padrão comerciais independentes, provenientes de empresas certificadas para espectrometria de absorção atômica, contendo  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de concentração do elemento a analisar.

- 2.1.6. - Solução padrão de Antimônio (Sb), CertiPUR, ( $1002 \pm 2$ );
- 2.1.7. - Solução padrão de Cadmio (Cd), CertiPUR, ( $1000 \pm 2 \text{ mg/L}$ );
- 2.1.8. - Solução padrão de Chumbo (Pb), CertiPUR, ( $1001 \pm 2 \text{ mg/L}$ );
- 2.1.9. - Solução padrão de Crômio (Cr), CertiPUR, ( $1002 \pm 5 \text{ mg/L}$ );
- 2.1.10. - Solução padrão de Manganês (Mn), CertiPUR, ( $999 \pm 2 \text{ mg/L}$ );
- 2.1.11. - Ar acetileno de pureza mínima de 99,5%;
- 2.1.12. - Ar comprimido;
- 2.1.13. - Árgon 5.0 (pureza 99,999%)
- 2.1.14. - Solução de  $\text{HNO}_3$  a 1% (V/V)

Para um balão de 1000 mL transferiu-se 10 mL de  $\text{HNO}_3$  (2.1.2) e levou-se ao traço do balão com água Millipore.

- 2.1.15. - Solução de  $\text{HNO}_3$  a 0,5% (V/V)

Para um balão de 1000 mL transferiu-se 5 mL de  $\text{HNO}_3$  (2.1.2) e levou-se ao traço do balão com água Millipore.

- 2.1.16. - Solução de  $\text{HNO}_3$  a 25% (V/V)

Para um balão de 1000 mL transferiu-se 250 mL de  $\text{HNO}_3$  (2.1.2) e levou-se ao traço do balão com água Millipore.

#### 2.1.17. - Soluções padrão intermédias

Adicionou-se volume de solução padrão principal dos elementos em análise, para um balão volumétrico de 50 mL, ou outro volume conveniente. Adicionou-se a solução de ácido nítrico (2.1.14) ou (2.1.15), dependendo dos elementos, e levou-se ao traço do balão. Em seguida agitou-se bem a mistura.

Nas Tabelas A.I.1 e A.I.2 do Anexo I mostra-se um esquema da preparação dos padrões intermédios de cada elemento.

#### 2.1.18. - Soluções padrão de calibração

A preparação manual de soluções padrão de calibração foi apenas necessária para a análise elemento Mn por FAAS, pois o equipamento de GFAAS preparava as soluções padrão de calibração a partir de uma solução padrão intermédia, por diluição.

Na Tabela A.I.3 do Anexo I mostra-se o esquema da preparação das soluções padrão de calibração de Mn.

Em paralelo com as soluções padrão da calibração, preparam-se os respectivos brancos de calibração.

## 2.2. Material e Equipamentos

- Material de laboratório de uso corrente:

- Frascos de polietileno modificado (TFM) de 100 mL;
- Exsicador sem e com exsicante ( $\text{SiO}_2$ );
- Cadinhos de platina;
- Cápsulas de platina.

- Balança analítica *Mettler AT200*, calibrada e com uma precisão mínima de 0,1 mg, para a pesagem das amostras;

- Estufa *Binder JH*, calibrada para uma temperatura  $105 \pm 5^\circ\text{C}$ , para determinar o teor de humidade nas amostras;

- Muffla *Heraeus M110* calibrada e regulável para uma temperatura  $550 \pm 10^\circ\text{C}$ , para determinar o teor de cinzas;

- Sistema de micro-ondas, *Milestone ETHOS PLUS*, usado na digestão das amostras em vaso fechado;

- Placas de aquecimento eléctrica *Jencons*, utilizada na digestão das amostras em vaso aberto;

- Espectrômetro de absorção atômica de câmara de grafite Analytik Jena AG, Alemanha, modelo AAS ZEE nit 650, com correcção de ruído de fundo de Zeeman e com lâmpada de deutério, atomizador de tubo de grafite de cabeça transversa e amostrador MPE 60.

Os parâmetros instrumentais e o programa de temperaturas utilizado no funcionamento do espectrômetro de absorção atômica com câmara de grafite, para a quantificação/análise dos elementos Pb, Cr, Cd e Sb, encontram-se nas Tabelas 2.1 e 2.2, respectivamente.

**Tabela 2.1:** Descrição dos parâmetros instrumentais da Espectrometria de absorção atômica de câmara de grafite.

Parâmetros	Cd	Cr	Pb
Comprimento de Onda (nm)	228,8	357,9	283,3
Fenda (nm)	1,2	0,8	0,8
Corrente da Lâmpada (mA)	3	4	4
Volume da amostra	20	20	20
Volume do Modificador	5	5	5
Correcção Background de Zeeman	Sim	Sim	Sim

**Tabela 2.2:** Programa de temperaturas utilizado na Espectrometria de absorção atômica de câmara de grafite.

Programa de temperaturas		Cd	Cr	Pb
Secagem 1	Temperatura (°C)	90	90	90
	Tempo (s)	34	34	34
	Tempo da Rampa (°C. s <sup>-1</sup> )	5	5	5
Secagem 2	Temperatura (°C)	105	105	105
	Tempo (s)	25	25	25
	Tempo da Rampa (°C. s <sup>-1</sup> )	3	3	3
Secagem 3	Temperatura (°C)	110	110	110
	Tempo (s)	12,5	12,5	12,5
	Tempo da Rampa (°C. s <sup>-1</sup> )	2	2	2
Pirólise	Temperatura (°C)	800	950	900
	Tempo (s)	12,8	13,4	13,2
	Tempo da Rampa (°C. s <sup>-1</sup> )	250	250	250
Atomização	Temperatura (°C)	1400	2450	1800
	Tempo (s)	3,4	5,1	4,6
	Tempo da Rampa (°C. s <sup>-1</sup> )	1500	FP	1500
Limpeza	Temperatura (°C)	2300	2550	2300
	Tempo (s)	5,8	4,2	5,0
	Tempo da Rampa (°C. s <sup>-1</sup> )	500	500	500

- Espectrómetro de absorção atômica de chama, FAAS Analytik Jena AG, Germany, modelo AAS 5 FL, equipado com um queimador de chama ar/acetileno, e com alimentação de gás ar/acetileno, com um nebulizador, com lâmpadas de cátodo oco dos respectivos elementos, com um sistema de correcção do *background* (lâmpada de deutério) e sistema informático (computador) para o tratamento de dados.

Na Tabela 2.3 indicam-se as condições instrumentais do espectrómetro de absorção atômica de chama.

**Tabela 2.3:** Condições instrumentais utilizadas na Espectrometria de absorção atômica de chama.

Parâmetros	Mn
Comprimento de Onda (nm)	279,5
Fenda (nm)	0,20
Corrente da Lâmpada (mA)	6
Composição Química da Chama	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>
Correcção Background com Lâmpada de D2	Não

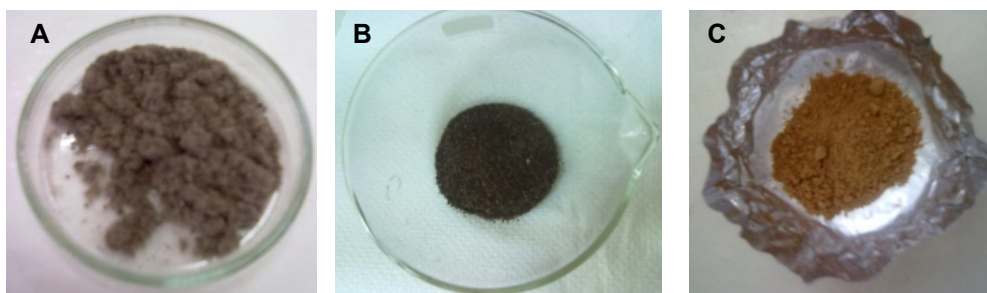
### 2.3. Limpeza e descontaminação do material

Todo o material de laboratório usado no decurso dos ensaios foi sujeito ao mesmo processo de limpeza e de descontaminação, ou seja passados por água corrente de forma abundante para possíveis retirar resíduos, depois levados com água Millipore e mergulhados em HNO<sub>3</sub> a 25% (V/V) (2.1.16) durante aproximadamente 1 dia. Posteriormente todo o material é lavado com água Millipore e colocados numa estufa até ficarem bem secos.

### 2.4. Amostras

As amostras de biomassa (Figura 2.1) analisadas neste trabalho foram fornecidas pelo Laboratório de Biocombustíveis e Ambiente, do LNEG. As amostras já tinham sido sujeitas a uma moagem prévia e apresentavam uma granulometria <0,25 mm. É necessário esta redução granulométrica das amostras para que possam ser analisadas quimicamente.

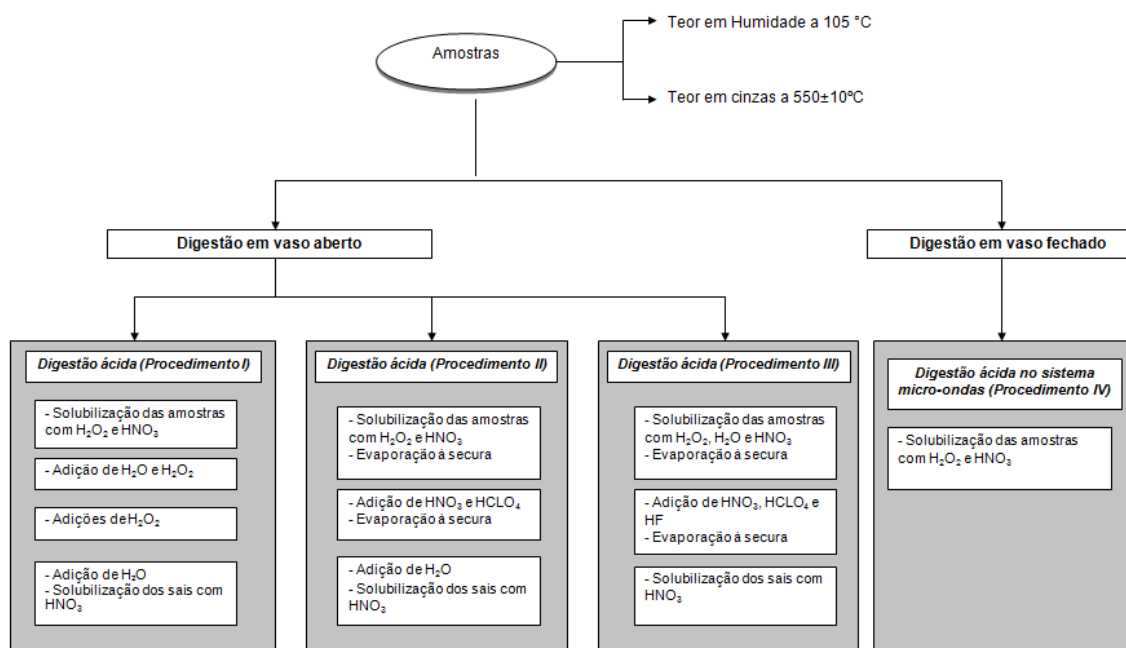
Neste trabalho usou-se três tipos de amostras; resíduos urbanos, caroço de azeitona e bagaço de azeitona.



**Figura 2.1:** Amostras de biomassa: (A) Resíduos urbanos; (B) Bagaço de azeitona e (C) Carvão de azeitona.

## 2.5. Plano para a caracterização química das amostras

Na Figura 2.2 apresenta-se um fluxograma com a caracterização química das amostras, e um resumo dos diversos métodos de digestão/decomposição utilizados.



**Figura 2.2:** Plano utilizado na caracterização química das amostras.

Foi avaliado o teor de humidade e de cinza das amostras usando frações independentes das amostras. O teor de humidade nas amostras de biomassa foi determinado de acordo com o método descrito na norma EN 14774-3:2009 [16]. As amostras foram secas à temperatura de 105 °C, numa estufa calibrada, e o teor de humidade é calculado a partir da quantidade de massa perdida. A determinação quantitativa das cinzas totais foi realizada de acordo com o método descrito na norma EN14775:2009 [52], usando as amostras tal qual.

Para a análise dos metais avalisou-se três métodos de digestão. O Mn foi determinado por FAAS, e o Cd, Cr, Pb, Sb por GFAAS.



## 2.6. Determinação do teor em humidade

As cápsulas de platina foram descontaminadas a  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 60 minutos. Deixou-se arrefecer à temperatura ambiente num exsicador com exsicante e pesou-se a cápsula,  $m_1$  até obter-se peso constante.

Pesou-se cerca de 1g de amostra,  $m_2$ , para a cápsula, previamente tarada.

Colocaram-se as cápsulas contendo as amostras, na estufa à temperatura de  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 60 minutos, e constantemente em ciclos de 60 minutos.

Em cada ciclo retirou-se as cápsulas com as amostras da estufa, arrefeceram-se estas à temperatura ambiente no exsicador com exsicante e pesaram-se até o peso da amostra,  $m_3$ , permanecer constante.

Considerou-se peso constante, quando a diferença entre duas pesagens em relação à amostra, durante um período de aquecimento de 60 minutos, não é superior a 1 mg [16].

O teor de humidade,  $Mad$ , é expresso em %(m/m) e é determinado pela equação:

$$Mad = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100 \quad \text{Equação 2.1}$$

onde,  $Mad$  corresponde ao teor de humidade em percentagem,  $m_1$  à massa em gramas da cápsula sem amostra,  $m_2$  à massa em gramas da cápsula com a amostra antes de se proceder à secagem e  $m_3$  à massa em gramas da cápsula contendo a amostra após a secagem.

## 2.7. Determinação do teor em cinzas

Calcinaram-se os cadinhos de platina, descontaminados e vazios, no forno a  $550 \pm 10^\circ\text{C}$ , durante 60 minutos. Deixou-se arrefecer os cadinhos no exsicador, sem exsicante.

Pesou-se 1 g de amostra numa balança com resolução de 0,1 mg e registou-se a massa.

Colocaram-se os cadinhos mais as amostras na Muffla fria para posterior calcinação, através de um programa de temperaturas representado na Tabela 2.4.

**Tabela 2.4:** Programa de temperaturas.

Etapa	Tempo min	Temperatura °C
1	50 (5°C/min)	250
2	60	250
3	30	250-550
4	120	550±10

Após 120 minutos retirou-se os cadinhos da Muflla e arrefeceu-se estas numa placa durante 5 a 10 minutos.

Colocou-se os cadinhos num exsicador sem exsicante, e pesou-se a massa destas.

Os cadinhos foram sujeitos a ciclos de 30 minutos a uma temperatura de 550°C, e recorreu-se ao mesmo procedimento, ou seja, retiraram-se as cápsulas contendo as amostras, arrefeceram-se no exsicador sem exsicante e pesaram-se. Repetiu-se esta operação até o peso permanecer constante.

Considerou-se peso constante, quando a diferença entre duas pesagens em relação à amostra, durante um período de aquecimento de 60 minutos, não é superior a 5 mg [52].

O teor de cinzas de uma amostra tal é expresso em percentagem, e pode ser calculado a partir da amostra tal qual Equação 2.2, ou em base seca Equação 2.3.

$$A_{ad} = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \times 100 \quad \text{Equação 2.2}$$

$$A_d = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \times 100 \times \frac{100}{100 - Mad} \quad \text{Equação 2.3}$$

onde,  $A_{ad}$  corresponde à percentagem de cinzas na amostra tal qual,  $A_d$  à percentagem de cinzas na amostra em base seca,  $m_1$  à massa em gramas da cápsula sem amostra,  $m_2$  à massa em gramas da cápsula com a amostra antes de se proceder à secagem,  $m_3$  à massa em gramas da cápsula contendo a amostra após a secagem e  $Mad$  é a percentagem de humidade calculada nas amostras [52].

Neste trabalho a o teor de cinzas foi calculado com as amostras em base seca, ou seja descontando o valor da percentagem de humidade nestas  $Mad$ .

## 2.8. Determinação de Cd, Cr, Pb, Sb e Mn por Espectrometria de Absorção Atômica

Neste trabalho utilizaram-se quatro tipos métodos de digestão de amostras, para posterior determinação dos elementos Cd, Pb, Cr, Sb e Mn por espectrometria de absorção atômica: três métodos de digestão em vaso aberto (Procedimento I, II e III) e outro em vaso fechado recorrendo ao sistema micro-ondas (Procedimento IV).

### 2.8.1. Procedimento I: Digestão ácida em vaso aberto com HNO<sub>3</sub>

Transferiu-se entre 400 a 500 mg de amostra moída e 50 mg de cinza de amostra, para copos de teflon. Adicionou-se 2,5 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2.1.5), e 5 mL de HNO<sub>3</sub> (2.1.2), e deixou-se reagir durante 15 minutos.

Taparam-se as amostras com um vidro de relógio e aqueceram-se a  $95\pm 5^{\circ}\text{C}$ , durante 30 minutos, usando uma placa de aquecimento.

Repetiu-se este último tratamento para assegurar que ocorreu a oxidação completa.

Tapou-se os copos de teflon com vidro de relógio e deixou-se a solução evaporar aproximadamente 5 mL, sem fervura.

Deixou-se arrefecer e adicionou-se 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  Millipore e 3 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (2.1.5). Tapou-se os copos com vidro de relógio e aqueceu-se estes na placa de aquecimento, para a reacção com o  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Durante este aquecimento teve-se atenção à efervescência que poderia ocorrer durante a reacção, para que não houvesse perdas de solução.

Aqueceu-se até ao fim da efervescência e deixou-se arrefecer a solução.

Continuou-se a adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (2.1.5) em volumes de 1 mL, com aquecimento e sem ultrapassar um volume total de 10 mL, até que a efervescência fosse mínima ou o aspecto geral das amostras não mudasse.

Posteriormente retirou-se as amostras das placas, deixou-se arrefecer e adicionou-se 3 mL de  $\text{HNO}_3$  (2.1.2) e 10 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ , tapou-se o copo com vidro de relógio e aqueceu-se as amostras na placa durante 15 minutos, sem ferver.

Aquando da adição de todos os reagentes, deixou-se arrefecer as soluções e transferiram-se estas para balões volumétricos de 100 mL.

Após levar ao traço do balão, homogeneizou-se a solução, e transferiu-se para um frasco de polietileno.

Em paralelo com as amostras realizou-se um ensaio de branco [53].

### **2.8.2. Procedimento II: Digestão ácida em vaso aberto com $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$**

Transferiu-se entre 400 a 500 mg de amostra moída e 50 mg de cinza de amostra, para copos de teflon. Adicionou-se 2,5 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (2.1.5) e 3 mL de  $\text{HNO}_3$  (2.1.2), deixando reagir durante 15 minutos.

Tapou-se os copos de teflon com um vidro de relógio, colocou-se estes numa placa de aquecimento a  $95\pm 5^{\circ}\text{C}$ , e evaporou-se as amostras até à secura.

Realizou-se a digestão ácida das amostras, adicionando-se de 3 mL de  $\text{HNO}_3$  (2.1.2), e 3 mL de  $\text{HClO}_4$  (2.1.4).

As amostras foram digeridas na placa de aquecimento, durante cerca de 15 minutos e evaporando-se estas até à secura.

Quando as soluções atacadas não ficaram claras e transparentes, adicionou-se 10 mL de água Millipore quente, 5 mL de  $\text{HNO}_3$  (2.1.2) e 3 mL de  $\text{HClO}_4$  (2.1.4), e levou-se novamente a amostra à secura.

Deixou-se arrefecer as amostras, lavou-se as paredes do vaso de teflon com 10 mL de água Millipore quente e 5 mL de  $\text{HNO}_3$  (2.1.2), e aqueceu-se suavemente durante 10 minutos, de modo a solubilizar os sais.

Deixou-se arrefecer, diluiu-se as soluções digeridas para balões volumétricos de 100 mL com água Millipore, e transferiu-se a solução para um frasco de polietileno

Em simultâneo com as amostras realizou-se um ensaio de branco [54].

### **2.8.3. Procedimento III: Digestão ácida em vaso aberto com $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4/\text{HF}$**

Transferiu-se entre 400 a 500 mg de amostra moída e 50 mg de cinza de amostra, para copos de teflon. Adicionou-se 3 mL de  $\text{HNO}_3$  (2.1.2), 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  Millipore e 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (2.1.5), deixando reagir durante 15 minutos.

Aqueceu-se as amostras na placa de aquecimento a  $95\pm 5^\circ\text{C}$ , tapou-se os copos de teflon com um vidro de relógio e deixou-se as amostras a evaporar até à secura.

Procedeu-se à digestão ácida das amostras através de uma mistura de ácidos, onde adicionou-se 3 mL de  $\text{HNO}_3$  (2.1.2), e 3 mL de  $\text{HClO}_4$  (2.1.4) e 5 mL HF (2.1.1).

Digeriu-se as amostras, na placa de aquecimento, durante cerca de 15 minutos e estas foram evaporadas até à secura.

Quando as soluções atacadas não ficaram suficientemente claras e transparentes, adicionou-se 10 mL de água Millipore quente, 5 mL de  $\text{HNO}_3$  (2.1.2) e 3 mL de  $\text{HClO}_4$  (2.1.4), e levou-se as mesmas novamente à secura.

Deixou-se arrefecer, lavou-se as paredes do vaso de teflon com 10 mL de água Millipore quente e 5 mL de  $\text{HNO}_3$  (2.1.2), e aqueceu-se suavemente durante 10 minutos, de modo a solubilizar os sais.

Deixou-se arrefecer e transferiu-se as amostras para balões volumétricos de 100 mL e dilui-se estas com água Millipore, e transferiu-se a solução para um frasco de polietileno. Paralelamente às amostras realizou-se um ensaio de branco [54].

### **2.8.4. Procedimento IV: Digestão ácida em vaso fechado**

Pesou-se entre 400 a 500 mg de amostra moída e 50 mg de cinza de amostra, em vasos teflon do micro-ondas e adicionou-se 2,5 mL  $\text{H}_2\text{O}_2$  (2.1.5) e 5 mL de  $\text{HNO}_3$  (2.1.2).

Em paralelo com as amostras foram preparados, dois ensaios do branco da amostra o mesmo volume de todos os reagentes, e ensaios de digestão de padrão de controlo misto.

Nas soluções de padrões de controlo misto, encontravam-se as soluções padrão de todos os elementos que se pertence determinar nas amostras em estudo, e em concentrações bem definidas. Estes foram preparados com cada elemento a uma concentração cinco vezes superiores à concentração média da gama de trabalho, e do primeiro padrão da gama de trabalho, à excepção do Mn, pois como é analisado por FAAS este tem uma concentração igual à do início da gama de trabalho.

As concentrações teóricas de cada elemento nos padrões de controlo preparados, encontram-se representadas na Tabela A.II.1 do Anexo II.

Após a preparação de todos os ensaios, colocou-se cada vaso, previamente fechado no carrossel do micro-ondas e a sonda de temperatura no vaso numerado como 0 (ensaio com amostra). Accionou-se o carrossel para verificar-se que este está a rodar e verificou-se se a exaustão estava ligada. Seleccionou-se o programa de temperatura que consta na Tabela 2.5, tal como descrito na norma [55], e inicia-se a digestão no micro-ondas.

**Tabela 2.5:** Programa de aquecimento do forno do micro-ondas.

Etapa	Tempo	Temperatura
	min	°C
1	5	90
2	5	90-130
3	5	130-190
4	20	190

Após a conclusão do programa de aquecimento do forno do micro-ondas, manteve-se os vasos no micro-ondas à temperatura ambiente, de um de um dia para o outro. Posteriormente retiraram-se os vasos e transferiu-se quantitativamente as soluções digeridas para balões volumétricos de 100 mL, aferiu-se o balão, homogeneizou-se a solução, e transferiu-se para um frasco de polietileno.

## 2.8.5. Espectrometria de Absorção Atómica de Chama

### 2.8.5.1. Preparação do Espectrómetro

Ligou-se o espectrómetro, equipado com a lâmpada de cátodo oco do respectivo elemento a dosear, e o computador associado ao equipamento. De acordo com as características do equipamento, regularam-se as seguintes condições de operação:

- Posicionamento da lâmpada e a respectiva intensidade da corrente;
- A largura da fenda do monocromador;
- O comprimento de onda característico do elemento em estudo e aguardou-se cerca de vinte minutos para a estabilização da lâmpada.

Realizou-se o teste aos gases e regulou-se, nomeadamente o caudal destes às características do queimador. Aspirou-se água Millipore e regulou-se o espectrómetro em 0,000 de absorvância.

Atomizou-se uma solução padrão diluída do elemento em estudo, e optimizou-se vários parâmetros:

- Altura do queimador;
- Caudal dos gases da chama;
- Eficiência de nebulização.

Após cada medida aspirou-se água desionizada Millipore, ajustou-se novamente a absorvância para 0,000, e escolheu-se o tempo de integração e o número de leituras de absorvância, para a obtenção de um valor médio da absorvância.

Mediu-se as absorvâncias das soluções padrão de calibração, dos brancos das amostras, das amostras e terminou-se o ciclo das leituras sempre com um padrão.

Para verificar a estabilidade do espectrómetro ao longo da leitura, calculou-se os valores de desvio padrão das medidas de absorvância das soluções padrão do elemento em estudo.

#### **2.8.5.2. Calibração analítica**

Aspirou-se o conjunto de soluções padrão de calibração e o branco de calibração, e calculou-se a função de calibração, absorvância em função da concentração do elemento nas soluções padrão de calibração.

### **2.8.6. Espectrometria de Absorção Atômica de Câmara de Grafite**

#### **2.8.6.1. Preparação do Espectrómetro**

- Ligou-se à rede de alimentação o espectrómetro e o computador.
- Abriu-se a torneira do gás de Árgon, utilizado no sistema hidráulico, que funciona à pressão de 5 bar.
- Instalou-se a lâmpada de cátodo oco do respectivo elemento que pretende-se dosear, fez-se o ajuste automático desta, deixando-se a estabilizar durante 20 minutos.
- Fez-se o alinhamento do capilar do *auto-sampler*.
- Verificou-se a altura do capilar em relação ao forno de grafite. Este passo foi de extrema importância, pois a distância do capilar em relação ao tubo de grafite influencia a forma como a gota da amostra é depositada no tubo de grafite, e deste modo a quantificação desta.
- Quando se iniciou a recta de calibração, verificou-se o programa de temperaturas para cada um dos elementos analisados.
- Verificaram-se os modificadores de matriz dos respectivos elementos em análise e as posições respectivas do branco, das 10 soluções padrão e do modificador no *auto-sampler*, e

fez-se a análise das várias soluções padrão de calibração, dos brancos de digestão das amostras, das amostras e terminou-se o ciclo das leituras sempre com um padrão.

Na Tabela 2.6 encontram-se os modificadores utilizados na análise dos elementos por GFAAS.

**Tabela 2.6:** Modificadores utilizados na análise dos elementos por Espectrometria de absorção atômica de câmara de grafite.

Elementos	Modificadores
Cd	$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$
Cr	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$
Pb	$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$
Sb	$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ e $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

#### 2.8.6.2. Calibração analítica

No processo de calibração analítica utilizaram-se dez soluções padrão que enquadravam as amostras, branco de amostras e branco de calibração.

Calculou-se a função de calibração, absorvância em função da concentração do elemento nas soluções padrão de calibração.

#### 2.8.6.3. Ensaio com a amostra

Analisou-se as soluções amostra e mediram-se as absorvâncias do elemento que se pretendia determinar, utilizando-se as condições operatórias otimizadas.

Nos casos em que as absorvâncias da solução amostra se encontravam fora da gama de calibração, procedeu-se à diluição desta e dos respectivos brancos.

#### 2.8.6.4. Avaliação do efeito de matriz – ensaios de recuperação

Preparou-se um ensaio de fortificação da amostra já digerida. Aceitou-se os resultados com taxas de recuperação entre 90% a 110%.

Adicionou-se pelo menos duas concentrações diferentes de analito. Nas Tabelas A.III.1, A.III.2 e A.III.3, do Anexo III, encontram-se as concentrações adicionadas de analito em cada amostra.

### 2.8.7. Cálculos do teor de Cd, Pb, Cr nas amostras.

A concentração do elemento na solução amostra foi calculada de acordo com o Método da curva de calibração, sempre que foram cumpridos os seguintes critérios de aceitação:

- Branco de calibração,  $Br_c$ ;
- Branco da amostra,  $Br_{amostra}$ ;
- Diferença entre o branco da amostra e branco de calibração,  $|Br_{amostra} - Br_c|$ ;
- Ensaio de recuperação (amostra fortificada).

Nos casos em que houve incumprimento, apenas, do critério  $|Br_{amostra} - Br_c|$ , a concentração do elemento na solução amostra foi calculada de acordo com método da curva de calibração após a subtração do branco.

#### 2.8.7.1. Método da curva de calibração

A concentração do elemento nas soluções amostra foi calculada por interpolação do valor de absorvância medido no ensaio com as amostras na função de calibração.

#### 2.8.7.2. Método da curva de calibração após a subtração dos brancos

- Subtraiu-se a absorvância do branco da amostra,  $Br_{amostra}$ , aos valores de absorvância do branco de calibração,  $Br_c$ .
- Subtraiu-se o valor obtido da diferença do branco da amostra e do branco de calibração  $|Br_{amostra} - Br_c|$ , aos valores de absorvância das amostras sem reforço e das amostras fortificadas (absorvância corrigida).
- Calculou-se a concentração dos elementos nas amostras por interpolação da absorvância corrigida das amostras e fortificações na função de calibração.

#### 2.8.7.3. Cálculos

A partir do sinal instrumental, e por interpolação da curva de calibração, determinou-se o valor da concentração do elemento na solução de leitura da amostra. A concentração de cada elemento nas amostras obtidas por GFAAS após a digestão,  $w$ , é expressa em mg/kg pela equação:

$$w = \left[ w_{crg} \times \frac{V_A}{m_a} \times F_{dil} \right] \times 10^{-3} \quad \text{Equação 2.4}$$



onde,  $w_{crg}$  corresponde ao valor de concentração do analito em  $\mu\text{g/L}$  na solução de ataque obtida por interpolação de calibração,  $V_A$  o volume do balão volumétrico (mL) que contém a solução de ataque,  $m_a$  a massa da amostra utilizada na digestão;  $F_{dil}$  ao factor de diluição geralmente requerida quando o analito se encontra em quantidades elevadas nas amostras e para que a absorvância medida no espectrómetro se situe dentro da gama de concentrações da curva de calibração.

Nos casos em que existiu efeitos de matriz da amostra, foi necessário recalcular-se o valor de concentração do analito nas amostras,  $w_{crg}$ , com a correção do efeito de matriz, através da seguinte equação:

$$w_{crg} = \frac{w}{R_m \times 0,01} \quad \text{Equação 2.5}$$

onde,  $w$  corresponde à concentração do analito na amostra obtida pela curva de calibração,  $R_m$  à taxa de recuperação, Equação 1.5.

#### 2.8.7.4. Apresentação dos resultados

Foram calculados os limites de quantificação, expresso em  $\text{mg/kg}$ , referentes aos elementos em estudo nas amostras de biomassa, através da seguinte equação:

$$LQ = \frac{c_{x_1}}{m} \times F_{dil} \times V_A \quad \text{Equação 2.6}$$

onde,  $c_{x_1}$  corresponde à concentração mais baixa do analito na gama de trabalho em  $\mu\text{g/L}$ ,  $m$  à massa da amostra utilizada na digestão,  $F_{dil}$  ao factor de diluição,  $V_A$  ao volume do balão volumétrico que contem a solução de ataque.

Os valores de concentração de analito nas amostras deveriam coincidir ou ser o mais próximo possível do primeiro ponto da curva de calibração.

### 3. Resultados e Discussão

As amostras de bagaço de azeitona, caroço de azeitona e resíduos urbanos, foram caracterizadas com vista a serem utilizados como biocombustíveis. Sobre estas amostras foram realizadas diversas análises; determinação do teor em humidade; do teor em cinzas e análise elementar para avaliar a composição química das amostras.

A humidade das amostras foi obtida a partir da quantidade de massa perdida quando as amostras foram secas à temperatura de 105°C, de acordo com o método descrito no capítulo 2.6. O teor de humidade é uma propriedade importante que deve ser avaliada nos combustíveis que derivam da biomassa, pois dá indicação da quantidade de água presente nestas, que por sua vez influencia o poder calorífico dos biocombustíveis.

A determinação quantitativa das cinzas totais nas amostras de biomassa, efectuou-se de acordo com o método descrito no capítulo 2.7. As cinzas correspondem à matéria inorgânica presente nos biocombustíveis, que remanesce após a ignição de um combustível e é expressa em percentagem.

Os elementos metálicos, foram determinados por espectrometria de absorção atómica de chama, e de câmara de grafite, o que requereu a selecção uma gama de trabalho adequada para cada elemento em estudo, tendo em conta a concentração expectável do elemento nas amostras de biomassa, e calibração analítica.

Foi necessário estabelecer um processo de validação dos métodos para a determinação dos elementos, e a calibração analítica que foi efectuada usando o método da curva de calibração.

O processo de validação dos métodos, compreendeu o estudo de vários parâmetros das funções de calibração obtidas, dos limites de detecção e de quantificação. A metodologia usada na avaliação das curvas de calibração foi descrita no capítulo 1.5.2.

Para a análise elementar das amostras foi necessário aplicar tratamentos prévios e específicos às amostras, de modo a obter uma solução límpida, para que não haja perda de analitos e contaminação das amostras.

Estabeleceu-se programas de controlo de qualidade associados à curva de calibração, que compreendeu a estabilidade da função de calibração, avaliação das contaminações, os efeitos de matriz, precisão do método e eficiências dos métodos de digestão.

Avaliou-se a adequabilidade da utilização de quatro tipos de métodos de digestão de amostras: a digestão em vaso aberto (Procedimento I,II e III) e a digestão em vaso fechado por micro-ondas (Procedimento IV), para a posterior determinação dos elementos Cd,Cr, Mn, Pb e Sb por AAS.

### 3.1. Determinação Gravimétrica

#### 3.1.1. Determinação da Humidade

A determinação da humidade foi feita conforme descrito no capítulo 2.6. Aplicou-se um programa de controlo de qualidade, que incluiu a análise de duplicados das amostras, tendo como critério de aceitação de duplicados  $R^{rel} \leq 0,2\%$ , uso de balanças analíticas devidamente calibradas e um critério de peso constante [56].

**Tabela 3.1:** Teor de humidade de cada amostra a 105°C.

Amostras	Humidade %(m/m)	$R^{rel}$
A	5,1	0,03
B	9,3	0,18
C	8,6	0,04

$R^{rel}$  – Amplitude relativa (Equação 1.46)

#### 3.1.2. Determinação do teor de cinzas

O teor de cinzas foi determinado a partir das amostras tal qual, como foi descrito no capítulo 2.7. O programa de controlo de qualidade para determinar o teor de cinzas é igual ao descrito para a determinação da humidade.

**Tabela 3.2:** Teor de Cinzas de cada amostra a 550±10°C.

Amostras	Cinzas %(m/m)	$R^{rel}$
A	42,2	3,10 (não aplicável)
B	11,9	0,04
C	2,1	0,02

$R^{rel}$  - Amplitude relativa (Equação 1.46)

## 3.2. Validação e controlo de qualidade em AAS

### 3.2.1. Funções de calibração

No presente trabalho, a calibração analítica foi realizada através do método da curva de calibração. A metodologia usada na avaliação das curvas de calibração foi a descrita no capítulo 1.5.2.

Para cada um dos elementos em análise, seleccionou-se uma gama de trabalho preliminar, de acordo com as instruções do fabricante dos aparelhos de espectrometria de absorção atómica, de modo a avaliar qual o intervalo de concentrações em que o analito pode ser determinado e quantificado de forma precisa e exacta.

Para garantir os pressupostos modelos de regressão, avaliou-se a homogeneidade das variâncias através dos valores teste (TV), calculados pela Equação 1.8. Na Tabela 3.3 apresentam-se os valores TV calculados para as gamas de trabalho seleccionadas para cada um dos elementos. Verificou-se que:

- i) O elemento Mn não apresentou homogeneidade das variâncias na gama de trabalho 0,06-3 mg/L, pois o valor TV foi superior a 5,35 ( $F(f_1 = 9; f_2 = 9; p = 0,99)$ ), o que não cumpriu o requisito de variâncias homogêneas ao longo desta gama de trabalho. Neste caso não pôde ser usado o modelo de regressão na construção da função de calibração. Porém, na a gama de trabalho de 0,06-1 mg/L, verificou-se um valor de TV <6,99 ( $F(f_1 = 7; f_2 = 7; p = 0,99)$ ), existindo assim homogeneidade das variâncias, e por isso recorreu-se ao modelo de regressão para a construção da função de calibração.
- ii) Para os elementos Cd, Cr, Pb e Sb, o valor TV foi inferior a 10,67 ( $F(f_1 = 5; f_2 = 5; p = 0,99)$ ), indicando assim que a diferença entre as variâncias  $S_M^2$  e  $S_m^2$  não era significativa. Perante esta situação são cumpridos os requisitos do modelo da regressão para a construção da função de calibração.

A avaliação da linearidade foi efectuada através do teste de Mandel/Fisher, como se descreve no capítulo 1.5.2.1. Na Tabela 3.3 apresentam-se os valores de TV' calculados para cada elemento, com as gamas de trabalho nas quais existiu a homogeneidade das variâncias. Perante os resultados, verificou-se que:

- i) O elemento Mn apresentou um valor de TV' inferior a 16,28 ( $F(f_1 = 1; f_2 = 5; p = 0,99)$ ), verificando-se que a função de calibração é linear na gama de trabalho 0,06-1 mg/L.
- ii) Para os elementos Cr e Pb obtiveram-se valores de TV' inferiores a 34,12 ( $F(f_1 = 1; f_2 = 2; p = 0,99)$ ), significando assim que as funções de calibração polinomial não conduziram a um melhor ajustamento nas gamas de concentração apresentadas para estes elementos, e por isso a função de calibração é linear.

- iii) Em contrapartida, os elementos Cd e Sb apresentaram valores de TV' superiores a 34,12 ( $F_{(f_1 = 1; f_2 = 2; p = 0,99)}$ ), significando assim que as funções de calibração linear para estes elementos não conduzem a um ajuste significativamente melhor do conjunto de pares ordenados. Nestes casos foi ajustado o conjunto de valores da calibração através de uma função não linear, sendo que a função escolhida foi a racional, que é utilizada no *Software* dos equipamentos de AAS.

**Tabela 3.3:** Avaliação da homogeneidade das variâncias e da linearidade nas funções de calibração.

Elemento	Gama de trabalho	Gama da absorvância	TV	$F_{(N-1;n-1;0,99)}$	TV'	$F_{(1;N-3;0,99)}$
Mn	0,06-1 mg/L	0,008 - 0,125	6,6	6,99	11,1	16,3
	0,06-3 mg/L	0,012 - 0,440	52,2	5,4	22,5	12,3
Cd	0,2-1 µg/L	0,046 - 0,189	3,0	10,7	38,9	34,1
Cr	2-10 µg/L	0,032 - 0,136	0,85	10,7	-0,32	34,1
Pb	5-25 µg/L	0,021 - 0,084	3,4	10,7	-0,18	34,1
Sb	20-100 µg/L	0,068 - 0,276	0,17	10,7	54,2	34,1

TV – Valor teste para avaliar a homogeneidade das variâncias (Equação 1.8); TV' – Valor teste para avaliar a linearidade (Equação 1.7);  $F_{(N-1;n-1;0,99)}$  e  $F_{(1;N-3;0,99)}$  – Valores F da distribuição de Fisher.

Após a avaliação da linearidade das funções de calibração e da escolha do modelo da função de calibração, foram estudadas os respectivos parâmetros metrológicos: coeficiente de correlação  $r$ , desvio padrão residual  $S_{y_0}$ , desvio padrão do método  $S_{x_0}$ , e coeficiente de variação do método  $V_{x_0}$  e concentração característica  $C_0$  (Equações descritas nas Tabelas 1.1 e 1.2). Na Tabela 3.4 são apresentados os valores destes parâmetros das funções de calibração para as gamas de trabalho estudadas, tendo-se verificado que:

- Os valores dos coeficientes de correlação foram sempre superiores a 0,999, para todos os elementos analisados, sendo indicativo de uma boa correlação, à exceção do elemento Pb na função de calibração de 1º grau.
- Para todas as funções constatou-se que o coeficiente de variação do método  $V_{x_0}$  variou entre 1 e 2,5% para todos os elementos, excepto para o elemento Pb na função linear.
- A concentração característica, como já foi dito no capítulo 1.5.2.4, é um valor da sensibilidade do equipamento que se está a usar, e quanto menor for o valor desta, melhor é a sensibilidade do aparelho. No geral, pode-se verificar que as concentrações obtidas foram todas baixas.

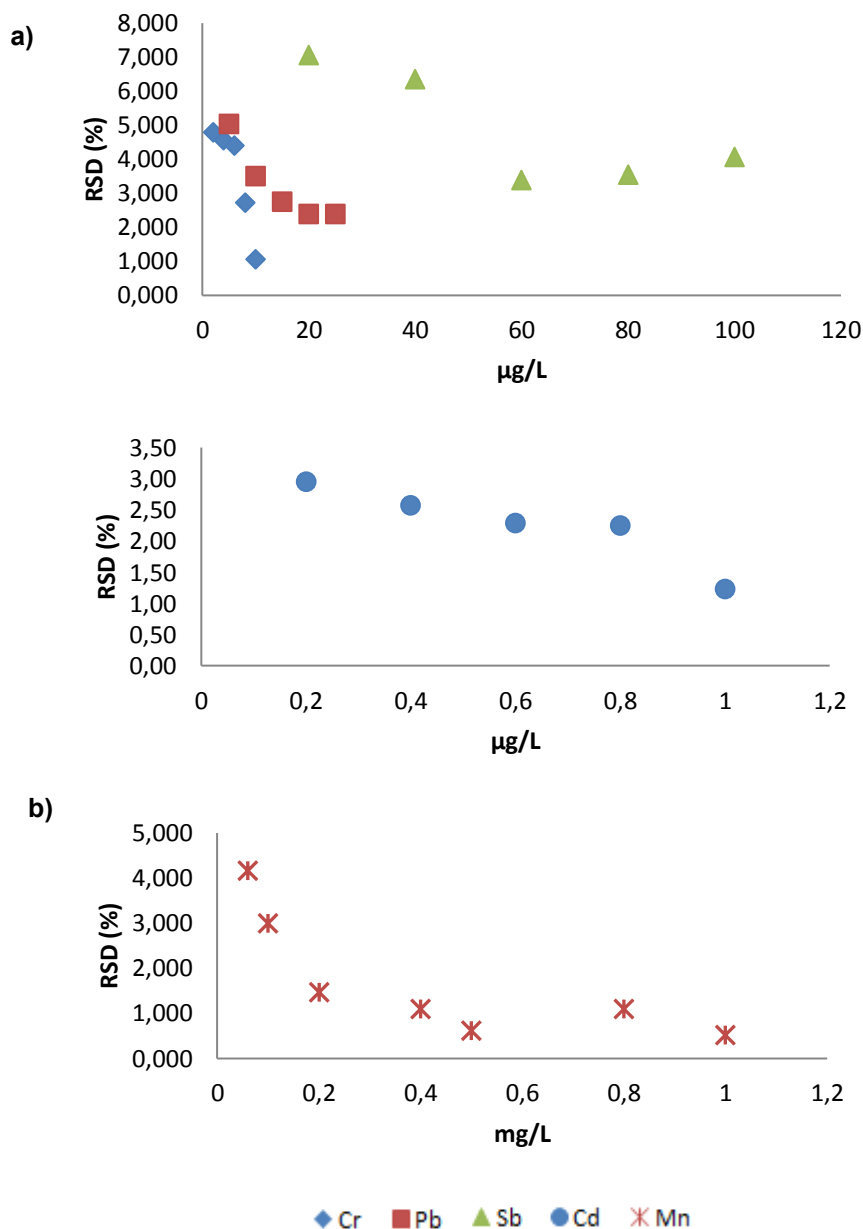
**Tabela 3.4:** Parâmetros das funções de calibração.

Elemento	Gama de trabalho	Tipo de função	$r$	<i>Declive</i>	$S_{x_0}$	$V_{x_0}$ (%)	$C_0$
Mn	0,06-1 mg/L	Função de 1º grau	0,9999	0,124	0,005 mg/L	1,2	0,035 mg/L
Cd	0,2-1 µg/L	Função Racional	0,9998	0,094	0,006 µg/L	1,2	0,047 µg/L
Cr	2-10 µg/L	Função de 1º grau	0,9996	0,013	0,12 µg/L	2,5	0,33 µg/L
Pb	5-25 µg/L	Função de 1º grau	0,9983	0,003	0,62 µg/L	5,0	1,34 µg/L
		Função Racional	0,9998	0,004	0,16 µg/L	1,3	1,10 µg/L
Sb	20-100 µg/L	Função Racional	0,9997	0,003	0,698 µg/L	1,4	1,32 µg/L

$r$  - Coeficiente de correlação da função de calibração (Equação 1.17 para funções de 1º grau e Equação 1.30 para funções racionais);  $S_{x_0}$  - Desvio padrão do método (Equação 1.15 para funções de 1º grau e Equação 1.26 para a função racional);  $V_{x_0}$  - Coeficiente de variação do método (Equação 1.16);  $C_0$  - Concentração característica (Equação 1.18 para funções de 1º grau e Equação 1.32 para a função racional))

Apesar do elemento Pb apresentar linearidade para a função de calibração de 1º grau, optou-se pelo modelo de função de calibração racional, pelo facto de esta apresentar melhores resultados nos parâmetros referidos na Tabela 3.4.

Na Figura 3.1 apresenta-se a faixas linear dinâmica (RSD) em função da concentração das soluções padrão do analito para cada elemento, que corresponde à gama de trabalho definida em termos de repetibilidade, através do desvio padrão relativos RSD (Equação 1.11), para cada ponto da curva da calibração. Verificou-se que os valores de RSD variam com a concentração dos padrões e que em todos os casos em geral o valor deste diminuiu com o aumento da concentração das soluções padrão. Pode-se ainda constar que os valores de RSD para o padrão de menor concentração da gama de trabalho não excederam os 10%.



**Figura 3.1:** Faixa linear dinâmica em: a) Espectrometria de absorção atômica de câmara de grafite; b) Espectrometria de absorção atômica de chama. RSD – Desvio padrão relativo (Equação 1.11)

### 3.2.2. Limites de Detecção e de Quantificação

Na Tabela 3.5, apresentam-se os valores de LD e LQ calculados de acordo com as equações apresentadas nas Tabelas 1.3 e 1.4 e usando diferentes modelos: o desvio padrão do branco ( $S_b$ ); o desvio padrão residual ( $S_{yo}$ ), de acordo com o Miller and Miller ,1988 [51] ; a partir do *Software* do espectrómetro de absorção atômica de chama e de câmara de grafite (*Software*). Verificou-se que:

- i) Os valores de LD e LQ foram sempre inferiores à concentração da primeira solução padrão da curva de calibração.
- ii) Os valores de LD e LQ calculados a partir do  $S_b$  e *Software* são praticamente coincidentes.
- iii) Os valores de LQ a partir do  $S_{yo}$  são ligeiramente inferiores o que é previsível pois o desvio padrão residual da curva de calibração deve ser inferior ao desvio padrão do branco, e não se entrou em linha de conta com as hipérboles.

**Tabela 3.5:** Limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ).

	Gama		LD		LQ		
		$S_b$	$S_{yo}$	<i>Software</i>	$S_b$	$S_{yo}$	<i>Software</i>
Mn	0,06-1 mg/L	0,011 mg/L	0,014mg/L	0,015 mg/L	0,047 mg/L	0,046 mg/L	0,051 mg/L
Cd	0,2-1 µg/L	0,033 µg/L	0,015 µg/L	0,036 µg/L	0,12 µg/L	0,056 µg/L	0,12 µg/L
Cr	2-10 µg/L	0,079 µg/L	0,37µg/L	0,14 µg/L	0,64 µg/L	1,2 µg/L	0,80 µg/L
Pb	5-25 µg/L	0,64 µg/L	0,39 µg/L	0,70 µg/L	2,3 µg/L	1,3 µg/L	2,3 µg/L
Sb	20-100 µg/L	3,5 µg/L	1,7µg/L	3,2 µg/L	11,3 µg/L	7,2 µg/L	10,8 µg/L

$S_b$  - Desvio padrão do branco;  $S_{yo}$  - Desvio padrão residual (Equação 1.14 para funções de 1º grau e Equação 1.24 para funções racionais); *Software*- *Software* do equipamento de AAS; LD- Limite de detecção ; LQ – Limite de quantificação

Sendo que os valores de RSD obtidos para o padrão de menor concentração da gama de trabalho não excederam os 10 %, pode-se chegar à conclusão que os resultados estão de acordo com a IUPAC: ao limite de de detecção está associado um valor de 33% e ao limite de quantificação a um valor de 10% [57].

### 3.2.3. Controlo de qualidade associado à Curva de Calibração

#### 3.2.3.1. Estabilidade da Função de Calibração

A estabilidade da função de calibração ao longo do dia foi feita através da análise de uma solução do padrão de calibração do elemento em estudo, preparada como descrito no capítulo 2.1.18. Utilizou-se a solução padrão com a concentração mais elevada da gama de trabalho da



curva de calibração. Na Tabela 3.6, apresentam-se as concentrações dos padrões de calibração utilizadas para cada elemento.

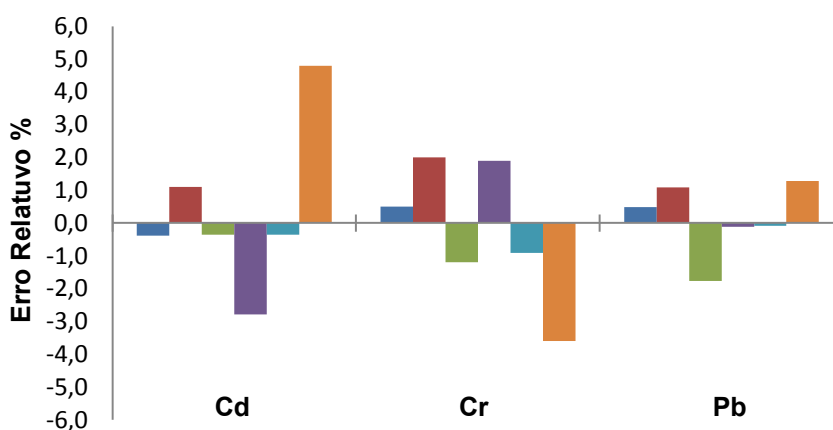
**Tabela 3.6:** Concentração do padrão de calibração para cada elemento analisado.

Elemento	Cd	Cr	Pb
$P_{\text{calibração}} (\mu\text{g/L})$	1	10	25

$P_{\text{calibração}}$  – Padrão de calibração

Durante o trabalho o padrão de controlo de calibração foi medido logo após a calibração analítica do equipamento e entre cada conjunto de 6 amostras.

Considerou-se que a função manteve-se estável quando as medições dos padrões de calibração não apresentaram desvios superiores aos estabelecidos, ou seja, 10%, significando assim que o equipamento encontrava-se estável, e pode-se considerar as absorvâncias lidas para cada amostra. Como se evidencia na Figura 3.2, os erros relativos calculados para os padrões de controlo de calibração foram sempre inferiores a 10% do valor previsto.



**Figura 3.2:** Erros relativos dos padrões de calibração em vários ensaios de cada elemento analisado.

Quando se observou que as medições dos padrões de controlo de calibração apresentavam desvios superiores aos estabelecidos, interrompeu-se as leituras das amostras e tomaram-se as medidas de correção necessárias. Sendo assim repetiu-se a calibração do equipamento e as posteriores medições das amostras analisadas, desde a última amostra em que o padrão de controlo de calibração cumpriu os critérios de aceitação.

### 3.2.3.2. Avaliação das Contaminações

A utilização de ensaios em branco é uma ferramenta de controlo de qualidade, e é utilizada com o objectivo de avaliar a incidência das contaminações provenientes da decomposição das amostras, ou seja, através do material e dos reagentes utilizados durante este processo, da

atmosfera do laboratório e também de todo o processo de manipulação, durante a digestão das amostras. Quando as contaminações são elevadas, estas podem afectar seriamente a qualidade dos resultados, particularmente quando se trabalha próximo do limite de quantificação do método [56] .

Sendo assim é de extrema importância a limpeza e a descontaminação de todo o material de laboratório, usado no decorrer dos ensaios, dado que as concentrações dos elementos a determinar nas amostras podem ser facilmente alteradas, por possíveis fontes de contaminação. O material utilizado foi submetido a um processo de descontaminação como descrito no capítulo 2.3.

Neste trabalho usou-se dois tipos de brancos de reagentes:

- i) O branco de calibração,  $Br_c$ , que corresponde ao meio de preparação das soluções padrão da curva de calibração.
- ii) O branco da amostra,  $Br_{amostra}$ , que contém todos os reagentes, excepto a amostra, e é submetido em paralelo a todo o processo analítico das amostras, incluindo as diluições que foram necessárias efectuar durante a análise destas por espectrometria de absorção atómica.

Nas Tabelas 3.7 e 3.8, apresentam-se os valores de absorvância relativamente ao branco das amostras e de calibração.

**Tabela 3.7:** Valores de absorvância referentes ao branco de amostras,  $Br_{amostra}$ , para cada elemento e método em estudo.

	Procedimento I			Procedimento II			Procedimento III			Procedimento IV		
	$F_{dil}$	$\bar{x} \pm 2s$	$n$	$F_{dil}$	$\bar{x} \pm 2s$	$n$	$F_{dil}$	$\bar{x} \pm 2s$	$n$	$F_{dil}$	$\bar{x} \pm 2s$	$n$
<b>Cd</b>	1	0,009 $\pm$ 0,003	4	1	0,023 $\pm$ 0,100	3	1	0,031 $\pm$ 0,009	3	1	0,021 $\pm$ 0,034	1
	10	0,0004	1	5	0,001	1	10	0,004 $\pm$ 0,001	2	5	0,0007	1
	-	-			-			-		20	0,0006	1
<b>Pb</b>	1	0,013 $\pm$ 0,010	5	1	0,010 $\pm$ 0,003	4	1	0,009 $\pm$ 0,002	5	1	0,003 $\pm$ 0,002	5
<b>Cr</b>	1	0,050 $\pm$ 0,009	5	2	0,043	1	1	0,200 $\pm$ 0,030	5	1	0,020 $\pm$ 0,005	5
	2	0,040		3	0,014	1	10	0,020 $\pm$ 0,004	3	5	0,008 $\pm$ 0,002	2
	10	0,011 $\pm$ 0,020	2	10	0,014	1	50	0,011	1	10	0,010 $\pm$ 0,001	2
	20	0,008	1	50	0,005	1	250	0,008	1	50	0,007 $\pm$ 0,001	2
	50	0,007	1	250	0,007	1	-	-		250	0,005 $\pm$ 0,001	3

$F_{dil}$  – Factor de diluição;  $n$  - Número de ensaios de brancos de amostra;  $\bar{x}$ - Valor médio das absorvâncias ;  $s$  – Desvio padrão do conjunto das medições dos ensaios em branco de amostra; Procedimento I – Método de digestão ácida em vaso aberto com  $HNO_3$ ; Procedimento II – Método de digestão ácida em vaso aberto com  $HNO_3/HClO_4$ ; Procedimento III – Método de digestão ácida em vaso aberto com  $HNO_3/HClO_4/HF$ ; Procedimento IV – Método de digestão em vaso fechado

**Tabela 3.8:** Valores de absorvância referentes ao branco de calibração,  $Br_c$ , para cada elemento e método em estudo.

	<b>Cd</b>	<b>Pb</b>	<b>Cr</b>
$\bar{x} \pm 2s$	0,0004 $\pm$ 0,0004	0,0004 $\pm$ 0,0006	0,004 $\pm$ 0,002
$n$	6	5	7

$n$  - Número de ensaios de branco de calibração;  $\bar{x}$ - Valor médio das absorvâncias;  $s$  – Desvio padrão do conjunto das medições dos ensaios em branco de calibração.

Como o valor de absorvância do branco de calibração está incluído na função de calibração, é necessário avaliar a necessidade de descontar o valor de absorvância do branco de calibração ao valor de absorvância das amostras.

Considerou-se que os brancos eram equivalentes sempre que o módulo da diferença entre os valores de absorvância  $Br_{amostra}$  e  $Br_c$ , seja inferior a 0,003 unidades de absorvância. Caso contrário, descontou-se os valores do branco de calibração às absorvâncias obtidas com as soluções padrão de trabalho e o valor do branco de reagentes aos valores de absorvância

obtidos com as amostras, e recalculou-se a função de calibração, mantendo-se os critérios de aceitação/rejeição definidos anteriormente.

### 3.2.3.3. Efeitos de Matriz

Os efeitos de matriz dependem além da matriz das amostras, do elemento que se está a analisar e da diluição que é necessária realizar nas amostras para posterior análise dos elementos por AAS. Para identificar possíveis casos, em que as matrizes das amostras causam as alterações nos sinais analíticos, foram efectuados ensaios de recuperação, em que soluções das amostras são reforçadas com quantidades conhecidas de analito. As concentrações da amostra e das amostras fortificadas devem estar enquadradas na gama da curva de calibração; e, por isso, adiciona-se pelo menos duas concentrações diferentes de analito, por exemplo, uma concentração próxima do limite de detecção, próxima da concentração máxima permitida ou uma concentração próxima à média da gama de trabalho usada no método.

Os resultados obtidos foram avaliados através do cálculo da taxa de recuperação,  $R_m$ , (Equação 1.5) e neste trabalho o critério de aceitação estabelecido para este parâmetro nos métodos estudados foi o seguinte: as taxas de recuperação que apresentaram valores entre 90% a 100%, são um indicativo de efeitos de matriz mínima. Desta forma aceitaram-se que há ausência de efeito de matriz na amostra e deste modo o método da curva de calibração é o adequado à determinação dos elementos analisados nas condições aplicadas [56]. Nos restantes casos, ou seja, quando as amostras apresentavam efeitos de matriz, recalculou-se o valor de concentração do analito nas amostras,  $w_{crg}$ , com a correção do efeito de matriz, através da Equação 2.5.

As Tabelas 3.9 e 3.10 apresentam os valores médios das taxas de recuperação (%), Equação 1.5, e do desvio padrão associado, das adições de analito efectuadas nas amostras em estudo, para cada um dos métodos de digestão aplicados. De acordo com os resultados obtidos pode-se verificar:

- i) Que para o elemento Cd, não apresentaram efeito de matriz: a amostra A no procedimento II; a amostra B nos procedimentos I e III; a amostra cinza A no procedimento III; a Cinza B nos procedimentos III e IV. Em contrapartida a amostra C apresentou efeito de matriz em todos os processos de digestão, bem como a amostra Cinza C, onde foi apenas aplicado um método de digestão.
- ii) Para o elemento Pb, apresentaram efeitos de matriz a amostra B nos procedimentos I e IV, a amostra C nos procedimentos II e III, a Cinza A no procedimento I e II, a Cinza B em todos os procedimentos e a Cinza C no procedimento I, ou seja no único método de digestão aplicado.
- iii) Para o elemento Cr, verificou-se que todas as amostras apresentaram efeitos de matriz em todos os processos de digestão aplicados.

Pode-se então concluir que os elementos que apresentam interferências de matriz diferem com o método de digestão das amostras, e que existem amostras com valores que se enquadram na gama de taxas de recuperação estabelecida.

**Tabela 3.9:** Avaliação dos efeitos de matriz para cada método de digestão usado para as amostras A, B e C.

		Procedimento I		Procedimento II		Procedimento III		Procedimento IV	
		F <sub>dil</sub>	Recuperação* (%)	F <sub>dil</sub>	Recuperação* (%)	F <sub>dil</sub>	Recuperação* (%)	F <sub>dil</sub>	Recuperação* (%)
<b>Cd</b>	A	-	-	5	102,0 ± 1,4	10	112,0 ± 1,4	20	87,0 ± 3,5
	B	1	95,0 ± 3,5	1	52,0 ± 4,9	1	97,0 ± 0,7	1	63,0 ± 1,4
	C	1	44,0 ± 2,8	1	123,0 ± 0,7	1	135,0 ± 0,7	1	72,0 ± 2,8
<b>Pb</b>	A	-	-	250	101,0 ± 2,1	250	109,0 ± 3,5	100	102 ± 1,4
	B	1	111,0 ± 2,8	1	99,0 ± 1,4	1	99,0 ± 0,7	1	86,0 ± 4,9
	C	1	93,0 ± 2,8	1	116,0 ± 2,1	1	134,0 ± 4,9	1	95,0 ± 5,7
<b>Cr</b>	A	-	-	250	78,0 ± 1,4	250	51,0 ± 2,8	250	65,0 ± 2,1
	B	10	85,0 ± 1,4	10	77,0 ± 2,8	10	56,0 ± 0,7	10	78,0 ± 2,8
	C	2	56,0 ± 0,7	2	81,0 ± 2,1	10	76,0 ± 4,2	2	60,0 ± 2,8

\* ( $\bar{x} \pm 2s$ ) para  $n = 2$ ;  $\bar{x}$ - Valor médio das taxas de recuperação;  $s$  – Desvio padrão do conjunto das medições; A – Amostra de resíduos urbanos; B - Amostra de bagaço de azeitona; C – Amostra de caroço de azeitona; Procedimento I – Método de digestão ácida em vaso aberto com HNO<sub>3</sub>; Procedimento II – Método de digestão ácida em vaso aberto com HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub>; Procedimento III – Método de digestão ácida em vaso aberto com HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub>/HF; Procedimento IV – Método de digestão em vaso fechado; F<sub>dil</sub> – Factor de diluição.

**Tabela 3.10:** Avaliação dos efeitos de matriz para cada método de digestão usado para as amostras Cinza A Cinza B e Cinza C.

		Procedimento I		Procedimento II		Procedimento III		Procedimento IV	
		F <sub>dil</sub>	Recuperação* (%)	F <sub>dil</sub>	Recuperação* (%)	F <sub>dil</sub>	Recuperação* (%)	F <sub>dil</sub>	Recuperação* (%)
<b>Cd</b>	Cinza A	10	111,0 ± 0,7	1	55,0 ± 0,7	2	95,0 ± 3,5	5	136,0 ± 3,5
	Cinza B	1	112,0 ± 2,8	1	57,0 ± 2,8	1	103 ± 4,2	1	91,0 ± 2,1
	Cinza C	1	50,0 ± 2,1	-	-	-	-	-	-

		Procedimento I		Procedimento II		Procedimento III		Procedimento IV	
		F <sub>dil</sub>	Recuperação* (%)	F <sub>dil</sub>	Recuperação* (%)	F <sub>dil</sub>	Recuperação* (%)	F <sub>dil</sub>	Recuperação* (%)
<b>Pb</b>	Cinza A	50	87,0 ± 2,8	40	136,0 ± 2,1	100	91,0 ± 1,4	50	99,0 ± 1,4
	Cinza B	5	112,0 ± 2,1	1	88,0 ± 2,1	1	115,0 ± 9,2	1	131,0 ± 1,4
	Cinza C	1	79,0 ± 0,0	-	-	-	-	-	-
<b>Cr</b>	Cinza A	50	63,0 ± 0,7	50	70,0 ± 0,0	50	49,0 ± 0,7	50	52,0 ± 2,8
	Cinza B	10	78,0 ± 4,2	3	49,0 ± 4,2	10	81,0 ± 5,7	5	69,0 ± 5,7
	Cinza C	20	75,0 ± 7,8	-	-	-	-	-	-

\* ( $\bar{x} \pm s$ ) para  $n = 2$ ;  $\bar{x}$  - Valor médio das taxas de recuperação;  $s$  - Desvio padrão do conjunto das medições; Cinza A – Cinza da amostra de resíduos urbanos; Cinza B - Cinza da amostra de bagaço de azeitona; Cinza C – Cinza da amostra de caroço de azeitona; Procedimento I – Método de digestão ácida em vaso aberto com HNO<sub>3</sub>; Procedimento II – Método de digestão ácida em vaso aberto com HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub>; Procedimento III – Método de digestão ácida em vaso aberto com HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub>/HF; Procedimento IV – Método de digestão em vaso fechado; F<sub>dil</sub> – Factor de diluição.

Os resultados das concentrações das amostras, e das amostras fortificadas com as despectivas taxas de recuperação em percentagem, encontram-se no Anexo A.III

Nas Tabelas 3.11 e 3.12, encontram-se as concentrações dos elementos na solução amostra,  $w$  que é calculada por interpolação do valor de absorvância medido no ensaio com amostra a função de calibração, e os valores de concentração do analito nas amostras,  $w_{crg}$ , com a correção do efeito de matriz.

**Tabela 3.11:** Concentração dos elementos na solução amostra A,B e C com e sem a correção do efeito de matriz.

		Procedimento I			Procedimento II			Procedimento III			Procedimento IV		
		F <sub>dil</sub>	$w$ µg/L	$w_{crg}$ µg/L	F <sub>dil</sub>	$w$ µg/L	$w_{crg}$ µg/L	F <sub>dil</sub>	$w$ µg/L	$w_{crg}$ µg/L	F <sub>dil</sub>	$w$ µg/L	$w_{crg}$ µg/L
<b>Cd</b>	A	-	-	-	5	0,13 0,18 0,18	0,13 0,18 0,18	10	0,14 0,19 0,19	0,12 0,17 0,17	20	0,40 0,33	0,44 0,38
	B	1	<0,20 <0,20 <0,20	<0,20 <0,20 <0,20	1	<0,20 <0,20 <0,20	<0,40 <0,40 <0,40	1	<0,20 <0,20 <0,20	<0,20 <0,20 <0,20	1	<0,20 <0,20 <0,20	<0,30 <0,30 <0,30
	C	1	0,38 0,39 0,39	0,85 0,89 0,87	1	<0,20 <0,20 <0,20	<0,16 <0,16 <0,16	1	<0,20 <0,20 <0,20	<0,15 <0,15 <0,15	1	0,60	0,74

		Procedimento I			Procedimento II			Procedimento III			Procedimento IV		
		F <sub>dil</sub>	W µg/L	W <sub>crg</sub> µg/L	F <sub>dil</sub>	W µg/L	W <sub>crg</sub> µg/L	F <sub>dil</sub>	W µg/L	W <sub>crg</sub> µg/L	F <sub>dil</sub>	W µg/L	W <sub>crg</sub> µg/L
Pb	A	-	-	-	250	7,0 8,5 8,0	7,0 8,5 8,0	250	16,9 16,6 16,5	16,9 16,6 16,5	100	<5,0 <5,0 <5,0	<5,0 <5,0 <5,0
	B	1	<5,0 <5,0 <5,0	<4,5 <4,5 <4,5	1	<5,0 <5,0 <5,0	<5,0 <5,0 <5,0	1	<5,0 <5,0 <5,0	<5,0 <5,0 <5,0	1	<5,0 <5,0 <5,0	<6,0 <6,0 <6,0
	C	1	6,1 6,0 7,0	6,1 6,0 7,0	1	<5,0 <5,0 <5,0	<4,0 <4,0 <4,0	1	<5,0 <5,0 <5,0	<3,7 <3,7 <3,7	1	12,1	12,1
Cr	A	-	-	-	250	1,9 2,0 1,9	2,5 2,6 2,4	250	4,6 4,6	9,1 8,9	250	2,5 3,9	3,8 5,9
	B	10	1,4 1,0 1,4	1,6 1,2 1,6	10	1,6 1,4 1,6	2,1 1,8 2,1	10	3,8 3,7 3,6	6,8 6,6 6,4	10	1,5 1,9 1,6	1,8 2,4 2,0
	C	2	2,5 3,5 3,3	4,5 6,4 6,0	2	3,3 3,1 3,3	4,1 3,9 4,1	10	0,84 1,2 1,2	1,1 1,6 1,6	2	3,9	6,4

A – Amostra de resíduos urbanos; B - Amostra de bagaço de azeitona; C – Amostra de caroço de azeitona; Procedimento I – Método de digestão ácida em vaso aberto com HNO<sub>3</sub>; Procedimento II – Método de digestão ácida em vaso aberto com HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub>; Procedimento III – Método de digestão ácida em vaso aberto com HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub>/HF; Procedimento IV – Método de digestão em vaso fechado; F<sub>dil</sub> – Factor de diluição; w -Concentração dos elementos na amostra obtido pela curva de calibração; w<sub>crg</sub> - Concentração do analito nas amostras com a correção do efeito de matriz.

**Tabela 3.12:** Concentração dos elementos na solução amostra Cinza A,B e C com e sem a correção do efeito de matriz.

		Procedimento I			Procedimento II			Procedimento III			Procedimento IV		
		F <sub>dil</sub>	W µg/L	W <sub>crg</sub> µg/L	F <sub>dil</sub>	W µg/L	W <sub>crg</sub> µg/L	F <sub>dil</sub>	W µg/L	W <sub>crg</sub> µg/L	F <sub>dil</sub>	W µg/L	W <sub>crg</sub> µg/L
Cd	Cinza A	10	0,30 0,32 0,32	0,27 0,29 0,28	1	0,21 0,21	0,39 0,48	2	0,64 0,77 0,78	0,64 0,77 0,78	5	0,80 0,70 0,70	0,59 0,51 0,51
	Cinza B	1	<0,2 <0,2	<0,18 <0,18	1	<0,2 <0,2	<0,4 <0,4	1	<0,2 <0,2	<0,2 <0,2	1	<0,2 <0,2	<0,2 <0,2
	Cinza C	1	<0,2 <0,2	<0,4 <0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-

		Procedimento I			Procedimento II			Procedimento III			Procedimento IV		
		F <sub>dil</sub>	W µg/L	W <sub>crg</sub> µg/L	F <sub>dil</sub>	W µg/L	W <sub>crg</sub> µg/L	F <sub>dil</sub>	W µg/L	W <sub>crg</sub> µg/L	F <sub>dil</sub>	W µg/L	W <sub>crg</sub> µg/L
Pb	Cinza A	50	5,8 6,3 6,0	6,6 7,3 6,9	40	11,5 9,2 9,6	8,5 6,8 7,1	100	5,3 6,6 6,5	5,3 6,6 6,5	50	6,9 6,7 4,5	6,9 6,7 4,5
	Cinza B	1	17,5 15,5	15,7 14,2	1	<5,0 <5,0	<6,0 <6,0	1	<5,0 <5,0	<4,3 <4,3	1	<5,0 <5,0	<4,4 <4,4
	Cinza C	1	8,1 9,6	10,2 12,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cr	Cinza A	50	2,7 2,9 2,7	4,3 4,6 4,4	50	2,7 2,3	3,8 3,3	50	4,7 5,3 4,7	9,6 11,0 9,8	50	4,0 4,0 4,0	7,6 7,6 7,6
	Cinza B	10	2,1 2,0 1,7	2,7 2,6 2,2	3	6,1 5,8	12,4 11,9	10	1,2 0,97 1,2	1,5 1,3 1,5	5	3,7 2,7 2,7	5,4 4,0 4,0
	Cinza C	20	2,5 2,5	3,2 3,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Cinza A – Cinza da amostra de resíduos urbanos; Cinza B - Cinza da amostra de bagaço de azeitona ; Cinza C – Cinza da amostra de caroço de azeitona; Procedimento I – Método de digestão ácida em vaso aberto com HNO<sub>3</sub>; Procedimento II – Método de digestão ácida em vaso aberto com HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub>; Procedimento III – Método de digestão ácida em vaso aberto com HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub>/HF; Procedimento IV – Método de digestão em vaso fechado; F<sub>dil</sub> – Factor de diluição; w -Concentração dos elementos na amostra obtido pela curva de calibração; w<sub>crg</sub> - Concentração do analito nas amostras com a correção do efeito de matriz.

### 3.2.4. Precisão do Método de Espectrometria de Absorção Atômica

A precisão do método AAS foi avaliada de acordo com o descrito no capítulo 1.5.4.

Na Tabela 3.13 apresentam-se os valores medidos e as diferenças relativas obtidas para cada conjunto de resultados. Os valores individuais mostram-se nas Tabelas A.IV.1, A.IV.2 e A.IV.3 em anexo.

Através dos resultados obtidos (Tabela 3.13) verificou-se que em determinadas amostras, não foi possível a avaliação dos valores de duplicados/triplicados porque estas apresentavam concentrações inferiores ao limite de quantificação ou devido à quantidade insuficiente de amostra disponível para fazer ensaios em duplicado/triplicado.



**Tabela 3.13:** Diferenças relativas obtidas para cada conjunto de concentrações dos elementos nas amostras.

		Procedimento I		Procedimento II		Procedimento III		Procedimento IV	
		$\bar{w}$ (mg/Kg)	$R^{rel}$ (%)	$\bar{w}$ (mg/Kg)	$R^{rel}$ (%)	$\bar{w}$ (mg/Kg)	$R^{rel}$ (%)	$\bar{w}$ (mg/Kg)	$R^{rel}$ (%)
Cd	A	-	-	0,21	24	0,30	29	2,1	15
	B	<0,05	-	<0,05	-	<0,05	-	<0,05	-
	C	0,21	5	<0,05	-	<0,05	-	0,21	-
	Cinza A	5,6	7	0,85	21	1,5	21	5,4	13
	Cinza B	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4
	Cinza C	<0,4	-	-	-	-	-	-	-
Pb	A	-	-	1181	19	2574	3	362	-
	B	<1,2	-	<1,2	-	<1,2	-	<1,2	-
	C	1,5	15	-	-	-	-	3,0	-
	Cinza A	686,8	8,3	591,0	22	1209,7	22	612,9	33
	Cinza B	33,1	11	<10	-	<10	-	<10	-
	Cinza C	22,2	17	-	-	-	-	-	-
Cr	A	-	-	154,2	6	556,3	2	290,2	37
	B	3,5	4	5,0	13	14,6	5	5	24
	C	2,6	34	2	5	3,2	35	3,2	-
	Cinza A	441,2	6	354,5	14	998,3	13	755,2	0,5
	Cinza B	48,8	21	71,2	6,5	27,1	21	43,7	33
	Cinza C	125,3	0,3	-	-	-	-	-	-

$\bar{w}$  – Valor médio da concentração em mg/kg do elemento nas amostras tal qual;  $R^{rel}$  - Diferenças relativas obtidas para cada conjunto de resultado (Equação 1.46); Procedimento I – Método de digestão ácida em vaso aberto com  $\text{HNO}_3$ ; Procedimento II – Método de digestão ácida em vaso aberto com  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$ ; Procedimento III – Método de digestão ácida em vaso aberto com  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4/\text{HF}$ ; Procedimento IV – Método de digestão em vaso fechado

### 3.2.5. Avaliação dos métodos de digestão das amostras

A concentração dos vários metais nas amostras de biomassa, foram determinados por espectrometria de absorção atômica, após a digestão adequada dessas amostras.

Avaliou-se a adequabilidade da utilização de quatro tipos de métodos de digestão de amostras: a digestão em vaso aberto (Procedimento I, II e III) e a digestão em vaso fechado por

micro-ondas (Procedimento IV); e, cuja descrição pormenorizada é apresentada nos capítulos 2.8.1, 2.8.2, 2.8.3, 2.8.4.

Depois de se efectuar todas as correções para a obtenção das concentrações dos elementos nas amostras tal qual, como descrito no capítulo 2.8.7.2, calculou-se a concentração dos elementos em relação às amostras secas das seguintes formas:

- i) A partir da concentração do elemento nas amostras tal qual, conversão do resultado expresso em base seca a 105°C foi efectuada de acordo com a Equação 3.1:

$$w_{seco} = w \times \left( \frac{100}{100 - Mad} \right) \quad \text{Equação 3.1}$$

onde,  $w_{seco}$  corresponde à concentração dos elementos expressa em relação às amostras em base seca,  $w$  à concentração de cada elemento nas amostras obtidas por GFAAS após a digestão, e  $Mad$  ao teor de humidade.

- ii) A partir da concentração do elemento obtido nas cinzas, e a conversão do resultado expresso em base seca a 105°C foi efectuada de acordo com a Equação 3.2:

$$w_{seco} = \frac{w \times A_{ad}}{100} \quad \text{Equação 3.2}$$

onde,  $w_{seco}$  corresponde à concentração dos elementos expressa em relação às amostras em base seca,  $w$  à concentração de cada elemento nas amostras obtidas por GFAAS após a digestão, e  $A_{ad}$  ao teor de cinzas na amostra tal qual.

Nas Tabelas 3.14, 3.15 e 3.16, encontram-se os resultados da concentração dos elementos em relação à amostra seca obtida a partir das amostras digeridas na forma tal qual, e às amostras na base seca obtida a partir das cinzas, e nas Tabelas A.V.1, A.V.2 e A.V.3, os valores individuais das concentrações dos elementos nas amostras tal qual.

**Tabela 3.14:** Concentração de Cd expressa em relação à amostra seca obtidas a partir da digestão das amostras tal qual ou das respectivas cinzas.

	<b>A</b>		<b>B</b>		<b>C</b>	
	<i>Tal qual mg/Kg</i>	<i>Cinza mg/Kg</i>	<i>Tal qual mg/Kg</i>	<i>Cinza mg/Kg</i>	<i>Tal qual mg/Kg</i>	<i>Cinza mg/Kg</i>
<b>Procedimento I</b>	-	2,4	<0,06	<0,05	0,23	<0,008
<b>Procedimento II</b>	0,22	0,36	<0,06	<0,05	<0,06	-
<b>Procedimento III</b>	0,39	0,62	<0,06	<0,05	<0,06	-
<b>Procedimento IV</b>	2,1	2,3	<0,06	<0,05	0,21	-

**Tabela 3.15:** Concentração de Pb expressa em relação à amostra seca obtidas a partir da digestão das amostras tal qual ou das respectivas cinzas.

	<b>A</b>		<b>B</b>		<b>C</b>	
	<i>Tal qual mg/Kg</i>	<i>Cinza mg/Kg</i>	<i>Tal qual mg/Kg</i>	<i>Cinza mg/Kg</i>	<i>Tal qual mg/Kg</i>	<i>Cinza mg/Kg</i>
<b>Procedimento I</b>	-	290	<1,3	3,9	2	0,42
<b>Procedimento II</b>	1245	249	<1,3	<1,2	<1,3	-
<b>Procedimento III</b>	2711	511	<1,3	<1,2	<1,3	-
<b>Procedimento IV</b>	362	260	<1,3	<1,2	3	-

**Tabela 3.16:** Concentração de Cr expressa em relação à amostra seca obtidas a partir da digestão das amostras tal qual ou das respectivas cinzas

	<b>A</b>		<b>B</b>		<b>C</b>	
	<i>Tal qual mg/Kg</i>	<i>Cinza mg/Kg</i>	<i>Tal qual mg/Kg</i>	<i>Cinza mg/Kg</i>	<i>Tal qual mg/Kg</i>	<i>Cinza mg/Kg</i>
<b>Procedimento I</b>	-	186	3,8	5,8	2,9	2,4
<b>Procedimento II</b>	162	150	5,5	8,4	2,2	-
<b>Procedimento III</b>	586	421	16,1	3,2	3,5	-
<b>Procedimento IV</b>	306	319	5,5	5,2	3,2	-

Pela análise da Tabela 3.14, verificou-se que:

- i) No caso da amostra A, os procedimentos I e IV conduziram a resultados superiores aos dos procedimentos II e III, usando a amostra tal qual ou a cinza. Pode-se ainda verificar que nos procedimentos I e IV obtiveram-se valores próximos de concentrações de Cd, porque, no procedimento I a partir da cinza resultou uma concentração de 2,4 mg/Kg e no procedimento IV, a partir da amostra tal qual e da cinza obteve-se valores de 2,1mg/kg e 2,3 mg/kg, respectivamente.

O procedimento III, onde a solubilização dos elementos a analisar foi realizada por ataque ácido com mistura de HNO<sub>3</sub>, HClO<sub>4</sub> e HF, apresentou resultados superiores ao procedimento ii, onde apenas foi utilizado HNO<sub>3</sub> e HClO<sub>4</sub>.

Em todos os procedimentos, observa-se que as concentrações superiores de Cd obtidas a partir das cinzas, por existir perdas de analito durante as etapas de digestão e secagem das amostras.

- ii) Na amostra B devido aos teores de concentração serem inferiores ao limite de quantificação, não foi possível avaliar qual o procedimento mais adequado para determinar Cd.

- iii) A amostra C apenas apresentou concentrações de Cd superiores ao limite de quantificação, no procedimento I e IV, usando apenas a amostra tal qual, e isto deve-se ao facto de poder ocorrer perdas de Cd durante a calcinação das amostras a 550°C, para a obtenção das cinzas.

Nos procedimentos I e IV obtiveram-se valores próximos de concentração de Cd, usando a amostra tal qual, ou seja, 0,23 mg/kg e 0,21 mg/kg, respectivamente.

Em geral, pode-se concluir que na amostra A e na amostra C, os procedimentos de digestão mais adequados para determinar Cd nas amostras, são os procedimentos I e IV. No entanto, uma vez que a partir destes procedimentos obtêm-se valores próximos de concentração, não é necessário efectuar a digestão em vaso fechado recorrendo ao micro-ondas.

Pela análise da Tabela 3.15, verificou-se que:

- i) No caso da amostra A, os procedimentos I e IV apresentaram valores próximos de concentração, pois no procedimento I obteve-se 290 mg/kg de Pb, a partir da cinza, e no procedimento IV, usando a amostra tal qual e cinza, os resultados foram 362 mg/kg e 260 mg/kg, respectivamente.

O procedimento III, onde a oxidação da matéria orgânica foi realizada com HNO<sub>3</sub> e HF, apresentou resultados superiores aos restantes procedimentos, o que indica que este será o procedimento de digestão mais adequado para determinar Pb na amostra A.

Em todos os procedimentos verificou-se que as concentrações de Pb obtidas a partir das cinzas foram sempre menores, indicando assim que houve perdas do elemento durante o processo de calcinação na obtenção das cinzas.

- ii) A amostra B, apenas apresenta concentrações superiores ao limite de quantificação no procedimento I, quando é usada a cinza.
- iii) Na amostra C, obteve-se apenas resultados nos procedimentos I e IV, que tal como aconteceu com a amostra A, apresentaram novamente valores próximos, ou seja no procedimento I obteve-se 2 mg/Kg de Pb, a partir da amostra tal qual; e, para o procedimento II obteve-se a partir da amostra tal qual um valor de 3 mg/Kg. Pode-se ainda constatar que no procedimento I apresentou concentrações mais baixas de Pb nas amostras obtidas a partir das cinzas, indicando assim que houve perdas durante a conversão das amostras tal qual a cinzas.

Pela análise da Tabela 3.15, verificou-se que:

- i) Para a amostra A, os procedimentos I e IV conduziram a resultados de concentração semelhante, porque no procedimento I obteve-se 186 mg/Kg de Cr, a partir da cinza; e, para o procedimento II obteve-se a partir da amostra tal qual e da cinza, um valor de 306 mg/Kg e 319 mg/Kg, respectivamente.

O procedimento II quer para a amostra tal qual ou cinza, obteve concentrações superiores aos outros procedimentos, indicando assim, que é necessário o HF na digestão das amostras.

Verificou-se que em todos os procedimentos foram obtidas concentrações mais baixas de Cr usando as cinzas, indicando que houve perdas do elemento durante a calcinação para obter as cinzas.

- ii) Na amostra B, constou-se que em todos os procedimentos ocorreu perdas de Cr durante a obtenção das cinzas, pois obteve-se concentrações menores às usadas a partir da amostra tal qual. Os procedimentos I e IV apresentaram resultados concordantes e inferiores em relação aos outros procedimentos. Tal como a amostra A, foram obtidas concentrações mais elevadas no procedimento III, onde a digestão é efectuada por adição de HF.
- iii) Para a amostra C, foi apenas possível obter resultados a partir das cinzas no procedimento I, no entanto pode-se verificar que houve perdas do elemento Cr durante a calcinação para a obtenção das cinzas. Em geral, pode-se averiguar que os procedimentos I e IV, à semelhança das outras amostras, apresentaram resultados próximos, e inferiores aos outros procedimentos. Através do procedimento III, foram obtidas concentrações mais elevadas de Cr.

Pode-se concluir que através de todos os métodos de digestão, aplicados às amostras, foi possível detectar concentrações de Cr, no entanto foram obtidos resultados superiores quando foi aplicado o procedimento III.

Ao contrário dos outros elementos, Cd e Pb, obteve-se em todas as amostras concentrações de Cr superiores ao limite de quantificação, tal facto ocorre por este ser um elemento organometálico pouco volátil, ao contrário dos outros elementos.

Nestas circunstâncias, para se poder analisar os elementos Cd, Pb e Cr neste tipo de amostras é necessário:

- a) A mistura ácida usada na digestão das amostras deverá conter HF.
- b) Na etapa digestão não se deve evaporar os ácidos até a obtenção de resíduo, para que não ocorra perdas do elemento Cd nas amostras.

## 4. Conclusões

A dissertação teve como objetivo o desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para a caracterização química de amostras de biomassa, tendo em vista a sua valorização como matéria-prima para biocombustíveis.

A caracterização química das amostras foi feita através da determinação do teor em humidade, teor em cinzas e por análise elementar.

Durante este trabalho foram estudadas e implementadas etapas de programas de garantia de controlo de qualidade que permitiram avaliar, controlar e detectar possíveis erros nas metodologias analíticas aplicadas e criar informação que evidenciou as características metrologicas dos resultados.

### 4.1. Caracterização química das amostras de biomassa

As amostras de biomassa estudadas neste trabalho foram: as amostras de bagaço de azeitona; amostras de caroço de azeitona e de resíduos urbanos, fornecidas pelo Laboratório de Biocombustíveis e Ambiente que pertence ao Laboratório Nacional de Energia e Geologia, I.P. (LNEG).

A determinação do teor em humidade foi realizada a partir de triplicados das amostras tal qual, de acordo com método analítico CENT/TS 14774-3:2009. Obtiveram-se os seguintes teores de humidade  $\%(m/m)$ : 5,063 para a amostra A; 9,326 para a amostra B e 8,639 na amostra C. Verificou-se que de todas as amostras, a que apresentava maior teor de humidade foi a amostra B que corresponde ao bagaço de azeitona.

O teor em cinzas a partir das amostras tal qual, foi determinado de acordo com o método analítico CENT/TS 14775:2004, e verificaram-se os seguintes teores  $\%(m/m)$ : 42,2 para a amostras A; 11,9 para a amostra B e 2,1 para a amostra C.

A análise elementar efectuou-se de acordo com a norma EN ISO- 15297:2011, e foram implementados dois métodos analíticos:

- Espectrometria de absorção atómica com câmara de grafite (GFAAS) para a determinação da concentração de Cd, Pb, Cr e Sb;
- Espectrometria de absorção atómica de chama (FAAS) para determinar a concentração de Mn.

Uma vez que a análise dos metais foi realizada por espectrometria de absorção atómica, foi necessário uma digestão prévia das amostras, efectuada neste trabalho em vaso aberto,

com mistura de ácidos (Procedimento I,II e II); e, em vaso fechado através de tecnologia micro-ondas (Procedimento IV).

O trabalho realizado permitiu verificar se a análise dos elementos, nas amostras preparadas por técnicas de digestão distintas, conduzia a resultados analíticos coerentes, de modo a concluir a viabilidade da utilização das técnicas de preparação e, nomeadamente, permitiu concluir quais os métodos de digestão mais adequados para proceder às análises dos elementos.

A validação do método analítico e o programa de garantia de qualidade implementado incluiu a avaliação de vários parâmetros, apresentando-se de seguida as conclusões finais dessa avaliação.

#### 4.1.1. Funções de calibração em Espectrometria de Absorção Atômica

Ao longo deste trabalho, esteve sempre presente o processo de validação dos métodos de determinação dos elementos e a calibração analítica que foi efectuada usando o método da curva de calibração.

Na análise de cada elemento, foi inicialmente estudado o comprimento de onda mais adequado para a análise das soluções padrão.

Escolhido o comprimento de onda, seleccionou-se a gama de trabalho, de acordo com as instruções do fabricante e verificou-se se a gama de trabalho escolhida para cada elemento era a adequada, através da avaliação da homogeneidade de variâncias, pelo teste TV, de forma a garantir os pressupostos do modelo de regressão. Após comparar os valores teste TV calculados para cada elemento (Tabela 3.3), com o valor tabelado da distribuição de Snedecor/Fisher, chegou-se à conclusão que para todos os elementos, foi garantida a homogeneidade das variâncias, à excepção do elemento Mn na gama de trabalho 0,06-3 mg/L, uma vez que TV foi superior a 5,35 ( $F(f_1 = 9; f_2 = 9; p = 0,99)$ ).

A avaliação da linearidade foi realizada de acordo com a norma ISO 8466-1, através do teste TV', de modo a escolher o modelo da função de calibração mais adequada, ou seja, o modelo que apresenta melhor ajustamento nas gamas de concentração estudadas para cada elemento. Para os valores teste TV' calculados (Tabela 3.3), verificou-se para o elemento Mn, na gama de trabalho 0,06-1 mg/L, um valor de TV' inferior a 16,28 ( $F(f_1 = 1; f_2 = 5; p = 0,99)$ ), e para os elementos Cr e Pb valores de TV' inferiores a 34,12 ( $F(f_1 = 1; f_2 = 2; p = 0,99)$ ), significando assim que as funções de calibração linear conduziram a um melhor ajustamento nas gamas de concentração apresentadas para estes elementos.

Em contrapartida, os elementos Cd e Sb apresentaram valores de TV' superiores a 34,12 ( $F(f_1 = 1; f_2 = 2; p = 0,99)$ ), indicando que as funções de calibração linear para estes elementos, não conduzem a um ajuste significativamente melhor do conjunto de pares ordenados. Nestes casos foi ajustado o conjunto de valores da calibração através de uma função não linear, sendo que a função escolhida foi a Racional, que é utilizada no *Software* dos equipamentos de espectrometria de absorção atômica de chama (FAAS) e de câmara de grafite (GFAAS).

Após a escolha do modelo da função de calibração, foram estudados os respectivos parâmetros metrológicos: coeficiente de correlação  $r$ , desvio padrão do método  $S_{x_0}$ , coeficiente de variação do método  $V_{x_0}$  e concentração característica  $C_0$ . Para todos os casos (Tabela 3.4), verificou-se que: os coeficientes de correlação,  $r$ , obtidos para os elementos analisados, foram sempre superiores a 0,999, o que é indicativo de uma boa correlação; constatou-se que o coeficiente de variação do método  $V_{x_0}$ , variou entre 1 e 2,5% para todos os elementos, excepto para o elemento Pb na função linear e que as concentrações características obtidas apresentaram valores baixos.

Na análise da faixa linear dinâmica (Figura 3.1) observou-se que para todos os elementos, os valores de RSD diminuíram à medida que a concentração dos padrões era mais elevada. Os valores de RSD para o padrão de menor concentração foram inferiores a 8%.

Foram ainda determinados os valores dos limites de detecção e dos limites de quantificação (Tabela 3.5) de acordo com as regras da IUPAC, através: do desvio padrão do branco ( $S_b$ ); do desvio padrão residual ( $S_{y_0}$ ), de acordo com o Miller and Miller, 1988 [51] e a partir do *Software* do espectrómetro de absorção atômica de chama e de câmara de grafite (*Software*) (Tabela 1.3 e 1.4). Estes parâmetros dependem bastante da gama de trabalho, da sensibilidade e da estabilidade da função de calibração.

De acordo com os resultados obtidos para os LD e LQ chegou-se à conclusão que: os valores foram sempre inferiores à concentração da primeira solução padrão da curva de calibração e os valores calculados a partir do  $S_b$  e *Software* são praticamente coincidentes. Verificou-se ainda que, em geral, os valores de LQ a partir do  $S_{y_0}$  são ligeiramente inferiores, o que é previsível pois o desvio padrão residual da curva de calibração deve ser inferior ao desvio padrão do branco, e não se entrou em linha de conta com as hipérboles.

Os valores de RSD obtidos para o padrão de menor concentração da gama de trabalho não excederam os 10%, e desta forma chega-se à conclusão que os resultados estão de acordo com a IUPAC: ao limite de detecção está associado um valor de 33% e ao limite de quantificação a um valor de 10%.

#### 4.1.2. Controlo de qualidade associado à Curva de Calibração

Estabeleceu-se um programa de controlo de qualidade (Figura 1.9), que compreendeu: a estabilidade da função de calibração; a avaliação das contaminações; a avaliação dos efeitos de matriz; a precisão e veracidade.

O controlo da estabilidade da função de calibração foi realizada através da análise periódica da solução do padrão de calibração do elemento em estudo, preparada como descrito no capítulo 2.1.18. Utilizou-se a solução padrão com a concentração mais elevada da gama de trabalho da curva de calibração, que foi medido logo após a calibração analítica do equipamento e entre cada conjunto de 6 amostras. Como se evidencia na Figura 3.2, os erros relativos calculados para os padrões de controlo de calibração foram sempre inferiores a 10%



do valor previsto, indicando que a função de calibração manteve-se estável, bem como o equipamento, e pode-se considerar as absorvâncias lidas para cada amostra.

A avaliação de contaminações provenientes dos processos de digestão das amostras, foram detectadas através da análise dos ensaios em branco de calibração e dos brancos das amostras, (Tabelas 3.7 e 3.8). Avaliou-se a necessidade de descontar o valor de absorvância do branco de calibração ao valor de absorvância das amostras, e considerou-se que os brancos eram equivalentes sempre que o módulo da diferença entre os valores de absorvância  $Br_{amostra}$  e  $Br_c$ , fosse inferior a 0,003 unidades de absorvância. Caso contrário, descontou-se os valores do branco de calibração aos valores de absorvância obtidos com as amostras, e recalculou-se a função de calibração, mantendo-se os critérios de aceitação/rejeição definidos anteriormente.

Os efeitos de matriz das amostras foram avaliados através de ensaios de recuperação, em que as soluções resultantes da digestão das amostras foram reforçadas com quantidades conhecidas do analito que se pretende dosear na amostra.

As taxas de recuperação foram calculadas em todas as amostras, independentemente se estas continham a concentração dos elementos em estudo dentro do limite de quantificação ou não. Perante os vários resultados das taxas de recuperação obtidas (Tabela 3.9 e 3.10), aceitaram-se taxas de recuperação que apresentaram valores entre 90% a 110%, considerando-se que o método de curva de calibração aplicado é o adequado à determinação dos elementos analisados nessas condições. Verificou-se que há que considerar ausência de efeito de matriz no elemento Cd: na amostra A no procedimento II; na amostra B nos procedimentos I e III; na amostra Cinza A no procedimento III; a Cinza B nos procedimentos III e IV. Em contrapartida a amostra C apresentou efeito de matriz em todos os métodos de digestão, bem como a amostra Cinza C, onde foi apenas aplicado um método de digestão.

No elemento Pb, apresentaram efeito de matriz: a amostra B nos procedimentos I e IV; a amostra C nos procedimentos II e III; a Cinza A no procedimento I e II; a Cinza B em todos os procedimentos e a Cinza C no procedimento I, ou seja, no único método de digestão aplicado.

No elemento Cr, observaram-se taxas de recuperação sempre inferiores a 90%, o que significa que todas as amostras apresentam efeitos de matriz em todos os métodos de digestão aplicados.

Sempre que foi considerado efeitos de matriz nas amostras, recalculou-se o valor de concentração dos elementos nas amostras,  $w_{crg}$ , com a correcção do efeito de matriz (Tabela 3.11), pela Equação 2.5.

A precisão expressa em condições de reprodutibilidade foi avaliada através dos ensaios em duplicado e triplicado. Para avaliar a coerência dos resultados obtidos para ensaios em duplicado e triplicado, calculou-se a diferença relativa percentual,  $R^{rel}$ , entre os dois valores experimentais de concentração do analito. Através dos resultados obtidos (Tabela 3.13) verificou-se que, em determinadas amostras, não foi possível a avaliação dos valores de duplicados/triplicados porque estas apresentavam concentrações inferiores ao limite de

quantificação ou devido à quantidade insuficiente de amostra disponível para fazer ensaios em duplicado/triplicado.

A veracidade do método foi avaliada através da eficiência dos quatro métodos de digestão/decomposição das amostras (Procedimentos I, II, III e IV). Para tal, foram determinadas as concentrações dos vários elementos nas amostras em base seca, a partir da concentração do analito obtidos a partir da digestão das amostras tal qual e a partir das cinzas.

Tendo em conta os resultados obtidos (Tabela 3.14, 3.15 e 3.16), pode-se concluir que para se poder analisar os elementos Cd, Pb e Cr, neste tipo de amostras, o procedimento de digestão mais adequado é o procedimento III, onde a solubilização dos elementos é realizada por ataque ácido com mistura de  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HClO}_4$  e HF. No caso do elemento Cd, constou-se que não se deve evaporar os ácidos até a obtenção de resíduo, durante os procedimentos de digestão das amostras, para que não ocorram perdas do elemento nestas.

Nestas amostras propõe-se que numa digestão futura se utilize uma mistura de ácidos  $\text{HNO}_3$  e HF, com adição de ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ), quer em vaso aberto ou em vaso fechado. No entanto, para estes elementos não é imprescindível o uso do micro-ondas.

Com o objectivo de completar o trabalho compararam-se os valores de concentração obtidos para os elementos Cd, Pb e Cr nas amostras em base seca, com valores típicos dos elementos no tipo de amostras estudadas (Tabela 4.1).

**Tabela 4.1:** Valores de concentrações dos elementos Cd, Pb e Cr obtidas nas amostras de biomassa e valores típicos.

Amostras	Cd		Pb		Cr	
	$\bar{w}$ mg/kg	$\bar{w}_{tipica}$ mg/kg	$\bar{w}$ mg/kg	$\bar{w}_{tipica}$ mg/kg	$\bar{w}$ mg/kg	$\bar{w}_{tipica}$ mg/kg
Resíduos Urbanos	2,4	2,7 [58]	2711	871,6 [58]	586	469 [58]
Bagaço de azeitona	<0,05	0,025 [55]	3,90	3,83 [55]	16,1	14,3 [55]
Caroço de azeitona	0,23	0,10 [59]	1,6	0,5 [59]	3,5	6,0 [59]

$\bar{w}$ - Valor médio da concentração em mg/Kg dos elementos nas amostras em base seca;  $\bar{w}_{tipica}$  - Valor médio típico da concentração em mg/Kg dos elementos nas amostras em base seca.

Pode-se constatar que os valores de concentração dos elementos obtidos nas amostras de biomassa estudadas, apresentam valores similares aos valores típicos.

## 4.2. Notas finais

As metodologias analíticas utilizadas na caracterização química das amostras de biomassa foram validadas e controladas com base num programa de controlo de qualidade.

Nas amostras de bagaço de azeitona e caroço de azeitona, o elemento metálico que se encontrou em maior concentração foi o Cr. Por sua vez, os resíduos urbanos apresentaram uma maior concentração Pb.

Em conclusão, os resultados da validação e dos métodos de digestão recomendados, provaram no geral que para análise das amostras é necessário que se utilize uma mistura de ácidos  $\text{HNO}_3$  e HF, e que a prática analítica se revelou apropriada para a quantificação dos elementos Cd, Pb e Cr.

No sentido de dar continuidade a este trabalho, seria importante avaliar a exactidão do método analítico utilizado e analisar os métodos de digestão mais adequados, através uso de Materiais de Referência Certificados (MRCs). Pois estes materiais possuem valores de uma ou mais propriedades já certificadas por um processo tecnicamente válido, e que é acompanhado por um certificado emitido por um organismo de certificação.

Num trabalho futuro, seria interessante determinar, nas amostras de biomassa, a concentração dos restantes elementos para qual foi validado o método analítico, ou seja, Sb e Mn.

Seria importante promover em trabalhos futuros, o estudo e análise da composição química em biomassa florestal, e seria interessante quantificar os outros elementos que se encontram na Norma EN-ISO 15297:2011. Dado que, a análise química destes elementos é, também, de extrema importância.

## 5. Bibliografia

1. COM.(2005). *Comunicação da Comissão das Comunidades Europeias (CCE). Plano de Acção Biomassa*. Bruxelas.
2. COM.(1997). *Comissão das Comunidades Europeias (CCE). Energy for the future: renewable sources of energy - White Paper for a community strategy and action plan*.
3. MEE. (2008), *National Long-Term Programme to Encourage the Use of Biomass for the Period 2008-2020*. Sofia: Ministry of Economy and Energy.
4. *Directiva n.º 2009/28/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de Abril de 2009, relativa à promoção da utilização de energia proveniente de fontes renováveis que altera e subsequentemente revoga as Directivas 2001/77/CE e 2003/30/CE*. Jornal Oficial da União Europeia L 140 de 5/6/2009.
5. Alakangas, E., J. Valtanen, and J.-E. Leulin, *CEN technical specification for solid biofuels—Fuel specification and classes*. Biomass and Bioenergy, 2006. **30**(11): p. 908-914.
6. Bakışgan, C., A.G. Dumanlı, and Y. Yürüm, *Trace elements in Turkish biomass fuels: Ashes of wheat straw, olive bagasse and hazelnut shell*. Fuel, 2009. **88**(10): p. 1842-1851.
7. CCE(2005a), *Comissão das Comunidades Europeias (CCE), Biomass action plan*, COM (2005) 628.
8. Demirbas, A., *Combustion characteristics of different biomass fuels*. Progress in Energy and Combustion Science, 2004. **30**(2): p. 219-230.
9. Global Wind Energy Council (GWEC), *Global Wind Statistics*. 2012.
10. POMinvest. *Energia : Dependência portuguesa ultrapassa média europeia*. Available from: <http://pominvest.blogspot.pt/2013/02/energia-dependencia-portuguesa.html#Uje3mMaisw9>, Acedido em 20 de Julho de 2013.
11. Blogue de apoio à unidade curricular "Economia Portuguesa e Europeia". *A dependência energética de Portugal*. Available from: <http://ecportuguesaeeuropeia.blogspot.pt/2012/05/dependencia-energetica-de-portugal.html>, Acedido em 20 de Julho de 2013.
12. International Energy Agency Bioenergy. *Task 29: IEA Bioenergy Network on Socio-economics*. Available from: <http://www.aboutbioenergy.info/>, Acedido em 23 Julho de 2013.
13. CENT/TS 14961:2005, *Solid biofuels-Fuel specifications and classes Solid Biofuels*.
14. Vassilev, S.V., et al., *An overview of the chemical composition of biomass*. Fuel, 2010. **89**(5): p. 913-933.
15. Werther, J., et al., *Combustion of agricultural residues*. Progress in Energy and Combustion Science, 2000. **26**(1): p. 1-27.
16. EN 14774-3 (2009) *Determination of moisture content-Oven dry method-Part 3: Moisture in general analysis sample*.
17. Obernberger, I., et al., *Concentrations of inorganic elements in biomass fuels and recovery in the different ash fractions*. Biomass and Bioenergy, 1997. **12**(3): p. 211-224.
18. Karampinis, E., Grammelis, P., Zethraeus, B., Andrijevskaia, J., Kask, Ü., Kask, L., Hoyne, S., Phelan, P., Casini, L., Picchi, G., Sandak, A., Sandak, J., *The Bioenergy System Planners Handbook*. 2012.
19. NP 4486:2008, *Combustíveis derivados de resíduos Enquadramento para a produção, classificação e gestão da qualidade*.
20. AEP- Associação Empresarial de Portugal, *Manual de Gestão de Resíduos Industriais*. 2011.
21. Pattara, C., G.M. Cappelletti, and A. Cichelli, *Recovery and use of olive stones: Commodity, environmental and economic assessment*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2010. **14**(5): p. 1484-1489.
22. 00/01969 *Olive bagasse, Part 1. Viability of its use as an alternative fuel*. Fuel and Energy Abstracts, 2000. **41**(4): p. 220.

23. Olive oil top. *Olive Waste Disposal*. Available from: <http://www.oliveoiltop.com/olive-waste-disposal/>, Acedido a 27 de Julho de 2013.
24. FRONDIZI, C.A., *Monitoramento da Qualidade do Ar: Teoria e Prática*: E-PAPERS.
25. Skoog, D.A.H., F. J.; Nieman, T., *Princípios de Análise Instrumental*. 5 ed, ed. Bookman. 2002, Porto Alegre.
26. Douglas A. Skoog , D.M.W., F. James Holler , Stanley R. Crouch *Fundamentos de Química Analítica*. 8 ed, ed. T.d.e. Norte-Americana. 2006: Thomson Learning Ltda.
27. Lajunen, L.H.J., P. Perämäki, and R.S.o. Chemistry, *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*. 2004: Royal Society of Chemistry.
28. Voet, D. and J.G. Voet, *Bioquímica 3ed*. 2006: Artmed Editora.
29. *Espectroscopia de Absorção Atômica (AA)*. Available from: <http://absorcion-atomica.blogspot.pt/>, Acedido em 2 de Maio de 2013.
30. Levinson, R., *More Modern Chemical Techniques*, ed. R.S.o. Chemistry. 2001, Londo.
31. G.H.Jeffery, J.B., J.Mendham, R.C.Denney, *Vogel's Textbook of quantitative chemical analysis*. 5 ed, ed. L.s. technical. 1989, New York.
32. Schlemmer, G. and B. Radziuk, *Analytical Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry: A Laboratory Guide*. 1999: Birkhäuser Verlag.
33. Thermo Fisher Scientific. *Analytical Method Development in Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*. Available from: [http://www.thermo.com/eThermo/CMA/PDFs/Various/File\\_1141.pdf](http://www.thermo.com/eThermo/CMA/PDFs/Various/File_1141.pdf), Acedido em 20 de Julho de 2013.
34. Robert M. Silverstein, F.X.W., David J. Kiemle, *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. 6 ed, ed. N. Guanabara. 2000, Rio de Janeiro.
35. Lauri H. J. Lajunen, P.P., *Spectrochemical Analysis By Atomic Absorption And Emission*. 2 ed, ed. T.R.S.o. Chemistry. 2004, Cambridge.
36. College, S.D.M. *Atomic Absorption Spectroscopy: Instrumental* Available from: [http://faculty.sdmiramar.edu/fgarces/LabMatters/Instruments/AA/AAS\\_Instrument/AAS\\_Instruments.htm](http://faculty.sdmiramar.edu/fgarces/LabMatters/Instruments/AA/AAS_Instrument/AAS_Instruments.htm), Acedido a 2 de Maio de 2013.
37. Welz, B., M. Sperling, and M. Resano, *Atomic Absorption Spectrometry*. 2008: Wiley.
38. Butcher, D.J. and J. Sneddon, *A Practical Guide to Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*. 1998: Wiley.
39. NP EN ISO/IEC 17025, "Requisitos gerais de competência para laboratórios de ensaio e calibração". 2005.
40. Guia RELACRE 13, *Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química*. Associação de Laboratórios Acreditados de Portugal, 2000.
41. DOQ-CGCRE-008 – Revisão 01, *Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos*. INMETRO, Março 2003.
42. Christopher M. Riley, T.W.R., *Development and Validation of Analytical Methods*. 1 ed, ed. E. Science. Vol. 3. 1996.
43. CITAC / EURACHEM GUIDE (2002) *Guide to Quality in Analytical Chemistry*.
44. VIM- Vocabulário Internacional de Metrologia, *Conceitos fundamentais e gerais*. 2012.
45. Trancoso, M.A., Correia dos Santos, Margarida A., Simões Gonçalves, Maria L, *Quality assurance program for the chemical characterization of soils*. Accred Qual Assur, 2003.
46. Miller, J., C., Miller, J., N.,, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. 6 ed, ed. E. Horwood. 2010, London.
47. ISO 8466 – 1 *Water Quality – Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics – Part 1: Statistical evaluation of the linear calibration function*, 1990;.
48. ISO 8466 – 2 *Water Quality – Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics, Part 2: Statistical strategy for non-linear second-order calibration functions*, 2001;.
49. Subramanian, G., *Quality Assurance in Environmental Monitoring*. 2008: Wiley.
50. Werner Funk, V.D., Gerhild Donnevert, *Quality Assurance in Analytical Chemistry: Applications in Environmental, Food and Materials Analysis, Biotechnology, and Medical Engineering*. 2 ed, ed. VHC. 2007.
51. Miller, J.N., *Basic Statistical Methods for Analytical Chemistry, Part 2.*, ed. Analyst. 1991.
52. EN 14775:2009, *Solid Biofuels- Method for the determination of ash content*.
53. United States Environmental Protection Agency *Method 3050B ,Acid digestion of sediments, sludges and soils*. December 1996.

54. ME 114\_04, *Solubilização de amostras por digestão ácida*. Laboratório Nacional de Engenharia , Tecnologia e Inovação , I.P - Laboratório de Análises Ambientais e de Controlo de Qualidade.
55. EN 15297:2011, "*Solid biofuels. Determination of minor elements. As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, V and Zn*".
56. Maria C. Rosa, C.A.N., Maria A. Trancoso, *Programa da Garantia da Qualidade Aplicado à Determinação de Metais em Lamas Industriais*, in *Medir MAIS E MELHOR*. 28 de Novembro de 2005.
57. IUPAC - Union of Pure and Applied Chemistry. 1978 *Nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis-II data interpretation Analytical chemistry division*. Spectrochim Acta Part B 33:241-254.
58. ECN Phyllis 2. *Database for biomass and waste,Organic wet fraction municipal waste (#3198)*. Available from: <https://www.ecn.nl/phyllis2/Browse/Standard/CEN-TS-14961> , Aquirido em 18 de Setembro de 2013.
59. ECN Phyllis 2. *Database for biomass and waste,olive pits (#3494)*. Available from: <https://www.ecn.nl/phyllis2/Biomass/View/3494>, Aquirido em 18 de Setembro de 2013.

## 6. Anexos

### 6.1. Anexo I – Traçado das curvas de calibração

Preparou-se uma série de 3 soluções de padrão intermédio para cada elemento, em balões volumétricos. À primeira solução padrão intermédia adicionaram-se volumes da solução padrão com 1000 mg/L do respectivo elemento, e as restantes foram preparadas a partir de cada uma das anteriores. Os volumes são indicados encontram-se nas Tabelas A.I.1 e A.I.2, e procedeu-se de acordo com §2.1.17 -*Soluções padrão intermedias*.

**Tabela A.I.1** – Preparação das soluções intermédias em GFAAS.

Concentração do elemento na solução padrão mg/L	Gama µg/L	Balões Volumétricos mL	Volume da solução padrão intermédia do elemento mL	Concentração do elemento nas soluções intermédias µg/L
1000 (Cd)	0,2- 1	100	1 – 1 - 1	100 µg/L - 10 µg/L - 1µg/L
1000 (Cr)	0-10	100	0,5 – 0,5 – 5	10 mg/L- 100 µg/L – 10 µg/L
1000 (Pb)	5 - 25	50	2,4 – 1 - 10	25 mg/L- 250 µg/L - 25 µg/L
1000 (Sb)	20 - 100	50	1 - 0,5 - 5	20 mg/L- 200 µg/L – 100 µg/L

**Tabela A.I.2** – Preparação das soluções intermédias em FAAS.

Concentração do elemento na solução padrão mg/L	Gama mg/L	Balões Volumétricos mL	Volume da solução padrão intermédia do elemento mL	Concentração do elemento nas soluções intermédias mg/L
1000 (Mn)	0,06 - 1	50	0,5	10 – 0,6
1000 (Mn)	0,06 - 3	50	0,5	10 – 0,6

Para FAAS foram preparadas uma série de 7 balões volumétricos de 50 mL, adicionou-se os volumes de solução padrão intermedia indicadas na Tabela A.I.3, e procedeu-se de acordo com §2.1.18 -*Soluções padrão de calibração*.

**Tabela A.I.3** – Preparação das soluções padrão de calibração em FAAS.

	<b>Gama mg/L</b>	<b>Concentração elemento na solução intermédia mg/L</b>	<b>Volume da solução padrão do elemento µL/50 mL</b>	<b>Concentração do elemento nas soluções padrão de calibração mg/L</b>
<b>Mn</b>	0,06 - 1	10	3000 - 100 - 200 - 400 - 500 - 800 - 1000	0,06- 0,1 - 0,2 - 0,4 - 0,5 - 0,8 - 1
	0,06 - 3	10	3000 - 100 - 200 - 500 - 1000 - 1500 - 2000 - 2500 - 3000	0,06 - 0,1- 0,2 - 0,5 - 1 - 1,5 - 2 - 2,5 - 3



## 6.2. Anexo II – Ensaios de digestão de padrão controlo misto

Foram preparados no total 12 ensaios de digestão de padrão controlo misto, contendo as concentrações, indicadas nas Tabelas A.II.1 e A.II.2, dos elementos em análise, e prepararam-se de acordo com §2.8.4 – *Digestão ácida em vaso fechado*

**Tabela A.II. 1** - Preparação dos ensaios de digestão de padrão de controlo misto com cinco vezes a concentração do primeiro padrão da gama de trabalho da curva de calibração.

Elemento	Gama	Técnica	Concentração do elemento na solução padrão intermédia mg/L	Volume da solução padrão do elemento $\mu\text{L}/100\text{ mL}$	Concentração do elemento nas soluções padrão de controlo misto
Mn	0,06-1 mg/L	FAAS	1000	50	0,5 mg/L
Cd	0,2-1 $\mu\text{g/L}$	GFAAS	10	25	2,5 $\mu\text{g/L}$
Cr	2-10 $\mu\text{g/L}$	GFAAS	100	25	25 $\mu\text{g/L}$
Pb	5-25 $\mu\text{g/L}$	GFAAS	100	60	60 $\mu\text{g/L}$
Sb	20-100 $\mu\text{g/L}$	GFAAS	1000	25	250 $\mu\text{g/L}$

**Tabela A.II.2.-** Preparação dos ensaios de digestão de padrão de controlo misto com cinco vezes a concentração média da gama de trabalho da curva de calibração.

Elemento	Gama	Técnica	Concentração do elemento na solução padrão intermédia mg/L	Volume da solução padrão do elemento $\mu\text{L}/100\text{ mL}$	Concentração do elemento nas soluções padrão de controlo
Mn	0,06-1 mg/L	FAAS	100	60	0,05 mg/L
Cd	0,2-1 $\mu\text{g/L}$	GFAAS	10	10	1 $\mu\text{g/L}$
Cr	2-10 $\mu\text{g/L}$	GFAAS	100	10	10 $\mu\text{g/L}$
Pb	5-25 $\mu\text{g/L}$	GFAAS	100	25	25 $\mu\text{g/L}$
Sb	20-100 $\mu\text{g/L}$	GFAAS	1000	10	100 $\mu\text{g/L}$

### 6.3. Anexo III – Taxas de recuperação das amostras

Nas seguintes tabelas encontram-se as taxas de recuperação das amostras para cada um dos métodos de digestão aplicado nas amostras.

**Tabela A.III.1.-** Taxas de recuperação das amostras para o elemento Cd.

Amostras	Procedimentos	F <sub>dil</sub>	Adições µg/L	Amostra µg/L	Amostras fortificadas µg/L	Taxas de recuperação (%)
<b>A</b>	I	-	-	-	-	-
			-	-	-	-
	II	5	0,2	0,18	0,38	101
			0,4		0,59	103
	III	10	0,2	0,20	0,43	113
			0,4		0,64	111
	IV	20	0,2	0,38	0,55	88
			0,4		0,71	84
<b>B</b>	I	1	0,2	0,08	0,27	97
			0,4		0,44	92
	II	1	0,2	0,13	0,23	48
			0,4		0,35	55
	III	1	0,2	0,25	0,44	97
			0,4		0,63	96
	IV	1	0,2	0,001	0,13	62
			0,4		0,26	64
<b>C</b>	I	1	0,2	0,35	0,43	42
			0,4		0,53	46
	II	1	0,2	0,08	0,20	58
			0,4		0,44	54
	III	1	0,2	-0,08	0,19	135
			0,4		0,46	134
	IV	1	0,2	0,60	0,75	74
			0,4		0,88	70
<b>Cinza A</b>	I	10	0,2	0,30	0,51	111
			0,4		0,73	110
	II	1	0,2	0,03	0,15	74
			0,4		0,25	71
	III	10	0,2	0,90	1,1	92
			0,4		1,3	97
	IV	10	0,2	0,49	0,76	134
			0,4		1,1	139
<b>Cinza B</b>	I	1	0,2	0,02	0,24	110
			0,4		0,48	114
	II	1	0,2	0,21	0,33	59
			0,4		0,43	55
	III	1	0,2	-0,07	0,13	100
			0,4		0,35	106
	IV	1	0,2	0,03	0,21	89
			0,4		0,40	92
<b>Cinza C</b>	I	1	0,2	0,004	0,10	48
			0,4		0,21	51

**Tabela A.III.2.-** Taxas de recuperação das amostras para o elemento Pb.

Amostras	Procedimentos	F <sub>dil</sub>	Adições µg/L	Amostra µg/L	Amostras fortificadas µg/L	Taxas de recuperação (%)
<b>A</b>	I	-	-	-	-	-
			-	-	-	-
	II	250	2,5	17,8	20,4	102
			5		22,8	99
	III	250	5	16,5	21,8	106
			10		25,7	111
	IV	100	5	14,6	19,6	101
			10		24,9	103
<b>B</b>	I	1	5	2,2	7,8	113
			10		13,1	109
	II	1	2,5	-0,40	2,1	100
			5		4,5	98
	III	1	2,5	-1,3	1,2	99
			5		3,6	98
	IV	1	10	3,0	11,7	86
			20		19,5	82
<b>C</b>	I	1	5	6,1	10,9	95
			10		15,2	91
	II	1	10	0,8	12,2	114
			20		24,2	117
	III	1	2,5	1,9	5,3	137
			5		8,4	130
	IV	1	5	13,3	17,9	91
			10		23,2	99
<b>Cinza A</b>	I	50	5	6,3	10,6	85
			10		15,2	89
	II	40	5	11,5	18,1	134
			10		25,1	137
	III	100	5	6,6	11,2	92
			10		15,6	90
	IV	50	5	4,9	9,8	98
			10		14,8	100
<b>Cinza B</b>	I	1	5	15,5	21,0	110
			10		26,8	113
	II	1	2,5	-2,0	0,16	86
			5		2,5	89
	III	1	2,5	-0,49	2,5	121
			5		5,4	118
	IV	1	5	5,1	11,7	132
			10		10,2	130
<b>Cinza C</b>	I	1	5	9,6	13,5	79
			10		17,5	79

**Tabela A.III.3.-** Taxas de recuperação das amostras para o elemento Cr.

Amostras	Procedimentos	F <sub>dil</sub>	Adições µg/L	Amostra µg/L	Amostras fortificadas µg/L	Taxas de recuperação (%)
<b>A</b>	I	250	2	2,7	3,9	77
			4		5,3	79
	III	250	2	4,6	5,6	49
			4		6,7	53
	IV	250	2	2,5	4,0	63
			4		5,6	66
	I	10	2	1,6	3,3	86
			4		4,9	84
<b>B</b>	II	10	2	1,6	3,1	75
			4		4,7	79
	III	10	2	4,1	5,2	56
			4		6,4	57
	IV	10	2	2,0	3,6	80
			4		5,1	76
<b>C</b>	I	2	2	4,0	5,1	55
			4		6,2	56
	II	2	2	1,5	3,1	82
			4		4,6	79
	III	10	2	1,6	3,2	79
			4		4,5	73
	IV	2	2	3,9	5,0	58
			4		6,4	52
<b>Cinza A</b>	I	50	2	3,6	4,9	62
			4		6,1	63
	II	50	2	3,0	4,3	70
			4		5,8	70
	III	50	2	4,7	5,6	48
			4		6,6	49
	IV	50	2	5,0	6,1	54
			4		7,0	50
<b>Cinza B</b>	I	10	2	2,7	4,3	81
			4		5,7	75
	II	3	2	4,0	5,0	46
			4		6,1	52
	III	10	2	1,9	3,6	85
			4		5,0	77
	IV	5	2	3,6	5,0	73
			4		6,2	65
<b>Cinza C</b>	I	20	2	2,5	4,1	81
			4		5,5	76

## 6.4. Anexo IV – Diferenças Relativas

Nas Tabelas A.IV.1 A.IV.2 A.IV.3, são apresentados os valores de concentração das amostras analisadas em duplicado e triplicado, e as diferenças relativas, respectivamente para Cd, Pb e Cr.

**Tabela A.IV.1.-** Valores de concentração de Cd nas amostras analisadas e valores das diferenças relativas (%).

Amostras	Procedimentos	Duplicados/Triplicados			Média	Diferença relativa (%)
		1	2	3		
<b>A</b>	II	0,17	0,23	0,22	0,21	23,9
	III	0,30	0,41	0,41	0,37	29,5
	IV	2,20	1,90	-	2,05	14,6
<b>C</b>  <b>Cinza A</b>	I	0,20	0,21	0,21	0,21	4,8
	I	5,36	5,73	5,59	5,56	6,7
	II	0,94	0,76	-	0,85	21,2
	III	1,60	1,50	1,30	1,47	20,5
	IV	5,82	5,11	5,11	5,35	13,3

**Tabela A.IV.2.-** Valores de concentração de Pb nas amostras analisadas e valores das diferenças relativas (%).

Amostras	Métodos	Duplicados/Triplicados			Média	Diferença relativa (%)
		1	2	3		
<b>A</b>	II	1292,67	1070,97	2778,88	1181,82	18,8
	III	2563,91	2543,29	2614,48	2573,89	2,8
<b>C</b>  <b>Cinza A</b>	I	1,42	1,40	1,62	1,48	14,9
	I	676,08	663,67	720,65	686,80	8,3
	II	669,80	539,70	563,60	591,03	22,0
	III	1043,70	1310,30	1275,19	1209,73	22,0
	IV	664,64	688,22	485,95	612,94	33,0
<b>Cinza B</b>	I	35,00	31,27	-	33,14	11,3
<b>Cinza C</b>	I	20,31	24,07	-	22,19	16,9

**Tabela A.IV.3.-** Valores de concentração de Pb nas amostras analisadas e valores das diferenças relativas (%).

Amostras	Métodos	Duplicados/Triplicados			Média	Diferença relativa (%)
		1	2	3		
<b>A</b>	II	152,61	150,53	159,33	154,16	5,7
	III	561,39	551,26	-	556,33	1,8
	IV	343,98	236,46	-	290,22	37,0
<b>B</b>	I	3,71	2,88	3,84	3,48	3,7
	II	5,23	5,17	4,6	5,00	12,6
	III	14,98	14,71	14,2	14,63	5,3
	IV	4,44	5,63	4,77	4,95	24,1
<b>C</b>	I	2,97	2,79	2,08	2,61	34,1
	II	2,03	2,03	1,94	2,00	4,5
	III	3,57	3,45	2,46	3,16	35,1
<b>Cinza A</b>	I	432,78	431,50	459,24	441,17	6,3
	II	379,08	329,95	-	354,52	13,9
	III	955,31	953,52	1086,00	998,28	13,3
	IV	754,98	753,36	757,24	755,19	0,5
<b>Cinza B</b>	I	52,93	50,55	42,92	48,80	20,5
	II	73,55	68,9	-	71,23	6,5
	III	28,99	28,94	23,25	27,06	21,2
	IV	39,13	38,83	53,21	43,72	0,7
<b>Cinza C</b>	I	125,51	125,15	-	125,33	0,3

## 6.5. Anexo V – Concentração de Cd, Pb e Cr nas amostras tal qual

Nas Tabelas seguintes, apresentam-se os resultados obtidos para as amostras e para os métodos utilizados.

**Tabela A.V.1:** Concentração de Cd nas amostras de acordo com procedimento de digestão.

Amostras	Unidades	Procedimento I	Procedimento II	Procedimento III	Procedimento IV
<b>A</b>	mg/kg	-	0,17	0,30	2,2
	mg/kg	-	0,23	0,41	1,9
	mg/kg	-	0,22	0,41	-
<b>B</b>	mg/kg	< 0,05 (LQ)	< 0,05 (LQ)	< 0,05 (LQ)	< 0,05 (LQ)
	mg/kg	< 0,05 (LQ)	< 0,05 (LQ)	< 0,05 (LQ)	< 0,05 (LQ)
	mg/kg	< 0,05 (LQ)	< 0,05 (LQ)	< 0,05 (LQ)	< 0,05 (LQ)
<b>C</b>	mg/kg	0,20	< 0,05 (LQ)	< 0,05 (LQ)	0,21
	mg/kg	0,21	< 0,05 (LQ)	< 0,05 (LQ)	-
	mg/kg	0,21	< 0,05 (LQ)	< 0,05 (LQ)	-
<b>Cinza A</b>	mg/kg	5,3	0,76	1,3	5,8
	mg/kg	5,7	< 0,4 (LQ)	1,6	5,1
	mg/kg	5,6	0,94	1,5	5,1
<b>Cinza B</b>	mg/kg	< 0,4 (LQ)	< 0,4 (LQ)	< 0,4 (LQ)	< 0,4 (LQ)
	mg/kg	< 0,4 (LQ)	< 0,4 (LQ)	< 0,4 (LQ)	< 0,4 (LQ)
	mg/kg	< 0,4 (LQ)	< 0,4 (LQ)	< 0,4 (LQ)	< 0,4 (LQ)
<b>Cinza C</b>	mg/kg	< 0,4 (LQ)	-	-	-
	mg/kg	< 0,4 (LQ)	-	-	-

**Tabela A.V.2:** Concentração de Pb nas amostras de acordo com procedimento de digestão.

Amostras	Unidades	Procedimento I	Procedimento II	Procedimento III	Procedimento IV
<b>A</b>	mg/kg	-	1071,0	2614,5	362,4
	mg/kg	-	1292,7	2563,9	977,6
	mg/kg	-	2778,9	2543,3	-
<b>B</b>	mg/kg	< 1,2 (LQ)	< 1,2 (LQ)	< 1,2 (LQ)	< 1,2 (LQ)
	mg/kg	< 1,2 (LQ)	< 1,2 (LQ)	< 1,2 (LQ)	< 1,2 (LQ)
	mg/kg	< 1,2 (LQ)	< 1,2 (LQ)	< 1,2 (LQ)	< 1,2 (LQ)
<b>C</b>	mg/kg	1,4	< 1,2 (LQ)	< 1,2 (LQ)	3,0
	mg/kg	1,4	< 1,2 (LQ)	< 1,2 (LQ)	-
	mg/kg	1,6	< 1,2 (LQ)	< 1,2 (LQ)	-
<b>Cinza A</b>	mg/kg	663,7	669,8	1043,7	664,6
	mg/kg	720,7	539,7	1310,3	688,2
	mg/kg	676,1	563,6	1275,2	481,1
<b>Cinza B</b>	mg/kg	35,0	< 10,0 (LQ)	< 10,0 (LQ)	< 10,0 (LQ)
	mg/kg	31,3	< 10,0 (LQ)	< 10,0 (LQ)	< 10,0 (LQ)
	mg/kg	-	< 10,0 (LQ)	< 10,0 (LQ)	< 10,0 (LQ)
<b>Cinza C</b>	mg/kg	20,3	-	-	-
	mg/kg	24,0	-	-	-



**Tabela A.V.3:** Concentração de Cr nas amostras de acordo com procedimento de digestão.

Amostras	Unidades	Procedimento I	Procedimento II	Procedimento III	Procedimento IV
<b>A</b>	mg/kg	-	152,61	-	236,46
	mg/kg	-	159,33	561,39	368,47
	mg/kg	-	150,53	551,26	-
<b>B</b>	mg/kg	3,71	5,17	14,98	4,44
	mg/kg	2,88	4,60	14,71	5,63
	mg/kg	3,84	5,23	14,20	4,77
<b>C</b>	mg/kg	2,08	2,03	2,46	1,93
	mg/kg	2,97	1,94	3,57	-
	mg/kg	2,79	2,03	3,45	-
<b>Cinza A</b>	mg/kg	432,78	379,08	955,31	753,37
	mg/kg	459,24	191,37	1086,00	757,24
	mg/kg	431,50	329,95	953,52	754,98
<b>Cinza B</b>	mg/kg	52,93	73,55	28,99	53,21
	mg/kg	50,55	68,90	23,25	38,83
	mg/kg	42,92	-	28,94	39,13
<b>Cinza C</b>	mg/kg	125,15	-	-	-
	mg/kg	125,51	-	-	-